

Aus der I.Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF,Assoziation mit Euratom
München

Die Einwirkung von Prospen^R auf menschliches
Knochenmark in vitro

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-,Mund-und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Jürgen Wildanger
aus Berlin

1973

Aus der I.Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin - Neukölln

und

aus dem Institut für Haematologie der GSF,Assoziation mit Euratom
München

Die Einwirkung von Prospen^R auf menschliches
Knochenmark in vitro

Dissertation

zur

Erlangung der zahnmedizinischen Doktorwürde
am Fachbereich Zahn-,Mund-und Kieferheilkunde
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Zahnarzt Jürgen Wildanger
aus Berlin

Referent: Prof.Dr.med.Irene B o l l
Korreferent: Prof. Dr. med. Hermann M i c h e l



Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereiches
Zahn-,Mund-und Kieferheilkunde der Freien Universität
Berlin

Promoviert am: 7. Juli 1973

Einleitung

I. Die Bedeutung der Mutter	1
II. Die Entwicklung der Mutter	2
III. Die Beziehung zwischen Mutter und Kind	3
IV. Die Rolle der Mutter in der Erziehung	4
V. Die Verantwortung der Mutter	5
VI. Die Unterstützung der Mutter	6
VII. Die Herausforderungen der Mutter	7
VIII. Die Bedeutung der Mutter für das Kind	8
IX. Die Beziehung zwischen Mutter und Kind	9
X. Die Rolle der Mutter in der Erziehung	10
XI. Die Verantwortung der Mutter	11
XII. Die Unterstützung der Mutter	12
XIII. Die Herausforderungen der Mutter	13
XIV. Die Bedeutung der Mutter für das Kind	14
XV. Die Beziehung zwischen Mutter und Kind	15
XVI. Die Rolle der Mutter in der Erziehung	16
XVII. Die Verantwortung der Mutter	17
XVIII. Die Unterstützung der Mutter	18
XIX. Die Herausforderungen der Mutter	19
XX. Die Bedeutung der Mutter für das Kind	20

Meiner Mutter

I. Die Bedeutung der Mutter	1
II. Die Entwicklung der Mutter	2
III. Die Beziehung zwischen Mutter und Kind	3
IV. Die Rolle der Mutter in der Erziehung	4
V. Die Verantwortung der Mutter	5
VI. Die Unterstützung der Mutter	6
VII. Die Herausforderungen der Mutter	7
VIII. Die Bedeutung der Mutter für das Kind	8
IX. Die Beziehung zwischen Mutter und Kind	9
X. Die Rolle der Mutter in der Erziehung	10
XI. Die Verantwortung der Mutter	11
XII. Die Unterstützung der Mutter	12
XIII. Die Herausforderungen der Mutter	13
XIV. Die Bedeutung der Mutter für das Kind	14
XV. Die Beziehung zwischen Mutter und Kind	15
XVI. Die Rolle der Mutter in der Erziehung	16
XVII. Die Verantwortung der Mutter	17
XVIII. Die Unterstützung der Mutter	18
XIX. Die Herausforderungen der Mutter	19
XX. Die Bedeutung der Mutter für das Kind	20



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I <u>Einführung</u>	1
II <u>Fragestellung</u>	6
III <u>Methode</u>	7
Die Signifikanzberechnung	19
IV <u>Ergebnisse</u>	29
1. Das Differentialzellbild der Knochenmarkzellen	29
2. G/E-Index	34
3. Mitoseindizes	36
4. Karyologische Kurven	37
5. Signifikanzberechnung der Mitosen	40
6. Zusammenfassung der Ergebnisse	43
V <u>Diskussion</u>	46
VI <u>Zusammenfassung</u>	50
VII <u>Literaturverzeichnis</u>	51

Einführung

In jüngster Zeit ist man auf dem Gebiet der Hämatologie verstärkt bemüht, der Milz die richtige Stelle in bezug auf das Knochenmark einzuräumen. Zahlreiche Autoren stellen an Hand von Untersuchungen fest, daß der Milz regulierende Eigenschaften bezüglich der peripheren Blutzellzahl zukommen. Immer wieder wurde versucht, sowohl von der gesunden als auch von der erkrankten Milz, humorale Wirkstoffe nachzuweisen, die am hämatopoetischen System regulierend eingreifen (7, 11, 19, 27, 33, 34).

Das von der Firma IFAH herausgebrachte Pharmakon Prosplen^R ist ein papierchromatographisch standardisiertes histamin-, cholin-, eiweiß- und lipoidfreies Frischmilzextrakt.

SCHLIEPHAKE und MAURER war es gelungen, durch die Entwicklung des Extraktes dessen Wirkungen, sowie die Eigenschaften der Milz zu erforschen.

GALEN(26) sprach vom "Organon plenum mysterii", wenn er die Milz erwähnte. Die Milz ist die größte in den Blutkreislauf eingeschaltete Lymphdrüse und ihr kommt, wie der Leber, eine erythrozytendestruierende Wirkung zu. Innere wie äußere Faktoren (Alterungsvorgang der Erythrozyten sowie phagocytäre Einwirkungen der Milz und des RES) scheinen jedoch so gut wie sicher für den Vorgang mitverantwortlich zu sein.

Nach WALDOW(36) soll die Milz weiterhin in das vegetative Steuerungssystem des Stoffwechsels, vor allem auch bei infektiösen Krankheiten und in die von ihnen ausgehenden antiallergischen Reaktionen eingreifen. Hieraus wird die Indikation von Prosplen^R abgeleitet.

GRETSEL und BANTI(26) waren wohl die ersten, die von Verbindungen der Milz zum Knochenmark, dem blutbildenden System, berichteten. Bis heute konnte trotz verschiedenster Theorien das Zusammenspiel von Milz und Knochenmark noch nicht abgeklärt werden.

1912 glaubte ISAAK (23) an eine endokrine Funktion der Milz. Er bezweifelte, daß eine vermehrte Hämolyse in der Milz

Ursache der splenogenen Anämie sei, und sah eher eine durch die veränderte innere Sekretion der Milz hervorgerufene Hemmung der Knochenmarksfunktion.

RUHENSTROTH-BAUER(30), ein Vertreter der Hormon Theorie, schaltete in sein Schema über die "Wirkkette der Erythropoese" das RES der Milz ein und schrieb ihr ein spezifisches Hormon zu, das in den Steuerungsmechanismus der Erythropoese eingreift. Er erkannte einen doppelten Steuerungsmechanismus, der von einem relativen Sauerstoffmangel ausgelöst wird.

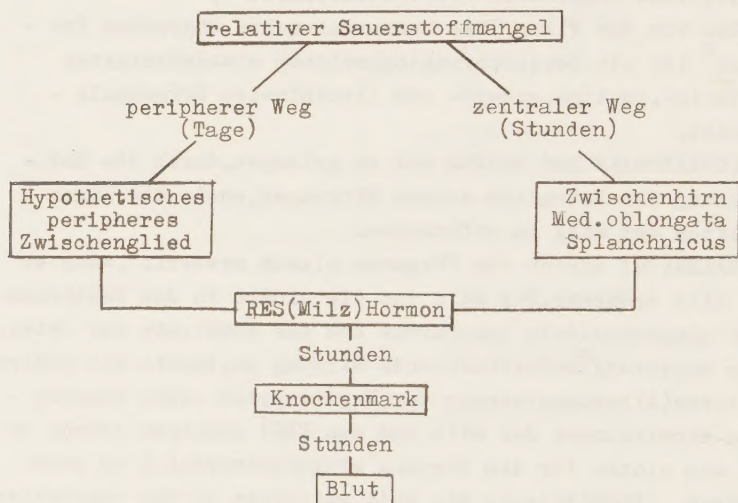


Abb.1

Beide Wege unterscheiden sich nur im zeitlichen Verlauf. In beiden Fällen wird das vom RES erstellte Hormon über die Blutbahn ins Knochenmark gebracht, um dort innerhalb weniger Stunden eine vermehrte Proliferation der Erythropoese zu bewirken.

1954 war LAUDA(22) noch davon überzeugt, daß die Milz hormonartige Stoffe abgibt.

Auch AMMON(5) sprach von einem knochenmarkaktivem Hormon der Milz, das bei Milzvergrößerung zum Hemmstoff wird, der die Erythrocyten, Leukocyten und Thrombocyten einzeln

oder gemeinsam auf einer bestimmten Reifungsstufe hemmt.

TOMODA(35) wies einen Milzfaktor nach, der die Zunahme von Erythro- und Thrombocyten bei Injektionen am Tier hervorrief. Bei der Thrombopenie des Morbus Werlhoff stellte er eine Megakaryocytose mit Felderungsstörung im Knochenmark fest. Der die Thrombopenie auslösende Faktor konnte isoliert werden. Nach der Splenektomie war der Faktor nicht mehr feststellbar. Injizierte man den Milzextrakt einem nicht splenektomierten Tier, so bekam es eine Thrombopenie und eine Megakaryocytose. Ferner zeigte TOMODA, daß Hypersplenismus eine Verminderung der Erythro-, Leuko- und Thrombocyten insgesamt oder auch nur zum Teil zur Folge hatte.

UNGAR(26) konnte aus Milzextrakten zwei Wirkstoffe gegensätzlicher Verhaltensweisen auf das Knochenmark isolieren: Splenin A mit hemmender Wirkung und Splenin B mit fördernder Wirkung.

HEILMEYER(21) diskutierte einen direkten und einen indirekten Mechanismus zwischen Milz und Knochenmark. Der indirekte Weg könnte über die Beteiligung der Milz am Untergang einzelner Blutelemente laufen, wodurch wieder rückwirkend die Knochenmarkleistung beeinflußt würde. Ob humorale oder hormonale Faktoren und ob gar beide Faktoren gemeinsam in irgendeiner Weise die Beziehungen zwischen Milz und Knochenmark regeln, bleibt vorerst noch offen. HEILMEYER fand in der Milz keinen Hemmfaktor für die Erythropoese und beobachtete, daß die Granulopoese nach der Splenektomie zurückging. Es entstand eine relative Lymphocytose. Als Grund nahm er hierfür einen humoralen Milzfaktor an. Der Milz käme danach eine Art Verteilerrolle zu. Schon FRANK(15) hatte vor über 50 Jahren die Zusammenhänge so gesehen und auf einen, von der überfunktionierenden Milz abgegebenen, humoralen Knochenmarkhemmstoff geschlossen. Er unterstützte aber auch die Theorie einer hormonalen Wirkung der Milz.

BOCK und FRENZEL(7) wiesen einen Knochenmarkhemmstoff nach, der normalerweise von der Leber unwirksam gemacht wird. Sie unterbanden die Venen von der Milz zur Leber und konn-

ten eine Knochenmarkshemmung erzeugen.

JOMBRES(25)konnte die Ergebnisse von BOCK und FRENZEL durch Milzvenenunterbindung eine wochenlange Anämie, Leukopenie und Thrombopenie zu erzeugen, am Knochenmark bestätigen. Die Myelogramme ließen ihn eine Ausschwemmungsstörung vermuten.

Daß es sich auch um eine Ausschwemmungsstörung handeln kann, zeigte BOLL(12,13) an Untersuchungen der Knochenmarkkinetik von Knochenmarkproben von Patienten mit Milztumoren, bei denen eine Linksverschiebung der Erythropoese und eine wesentliche Rechtsverschiebung der Granulopoese festgestellt wurde.

COTTIER(16)konnte die Proliferation der Erythropoese und Granulopoese durch den wässrigen Extrakt einer Hyperspleniemilz herabsetzen, genau wie JOMBRES durch Pfortaderunterbindung beim Kaninchen.

WEINREICH(37,38)hingegen konnte keine humoralen Faktoren im Sinne der "splenopathischen Markshemmung"erbringen. Nach seiner Ansicht gibt es keine besondere krankhafte Milzfunktion als Ursache eines "Hypersplenismus".

In neuerer Zeit wurde von mehreren Seiten(HITTMAYER(22), KAISER und RINDT(26),RUHENSTROTH-BAUER(31))ein spezifisches Hormon der Milz abgelehnt mit der Begründung, es fehle ihr die drüsige Differenzierung und ihr ganzer morphologischer Aufbau ließe eine Hormonbildung nicht vermuten.

PRIBILLA(28)ließ zwar eine milzspezifische Wirkung auf das Knochenmark offen, nahm jedoch einen humoralen Faktor der Milz beim Blutzellabbau an.

Ein weiterer Nachweis der Knochenmarkbeeinflussung durch die Milz wurde mit Röntgenstrahlen geführt. Nach Bestrahlung von Mäusen mit Röntgenstrahlen in einer Dosis von 1025r starben die Tiere nach 14 Tagen. Die hämatopoetische Funktion war bereits nach wenigen Tagen irreparabel gestört. Wurde die Milz hingegen mit Blei geschützt oder wurden Gaben von Milzhomogenat respektive -extrakt verabreicht, kam es nur zu transitorischen Knochenmarkschädigungen. Das ließ den Schluß zu, daß eine normale Milz und normal funktionierendes RES eine sichere Wirkung auf die Hämatopoese zeigt.

Heute wissen wir, daß diese Wirkung eine zelluläre Neubesiedlung ist(24)

GORLITZER v.MUNDY(17,18)berichtete von Therapieerfolgen beim Hyposplenismus(Verminderung oder Aufhebung aller Milzfunktionen)durch Anwendung gereinigten Milzextraktes(Prosplen^R).Nach ihm hat die Milz also bestimmte spezifische Wirkungen auf die Blutbildung im Knochenmark.Prosplen^R führt zur Normalisierung des roten Blutbildes,Rückbildung der Zyanose sowie zum Nachlassen der subjektiven Beschwerden,wie z.B.Kopfschmerzen,Schwindel,Ohrensausen,Erbrechen, Blutungen aus Nase,Zahnfleisch,Magen,Darm usw.und Schmerzen in der Milzgegend inf.Gefäßüberfüllung.Ferner stellte v.MUNDY sogar einen steigernden Effekt des Prosplen^R's auf die Phagocytose fest.Diese phagocytosesteigernde Wirkung von Prosplen^R in vitro, wie auch im menschlichen Blut nach parenteraler Injektion, wurde von SCHLEINZER(32) bestätigt.

An Knochenmarkkulturen konnte von v.ALBERT(1,2,3) die Wirkung von Substanzen aus Milzextrakten nachgewiesen werden.Er stellte verschiedene eiweißfreie Extrakte aus hypersplenischen Milzen her und testete sie.In einer zusammenfassenden Tabelle stellt er eine Proliferations- und Reifungshemmung der Granulopoese, sowie eine leichte Stimulation der Erythropoese an Knochenmarkkulturen bei Zusatz von Extrakten aus Kälbermilzen zusammen.Er testete auch einen menschlichen Extrakt einer Hyperspleniemilz, welcher die Erythropoese nicht störte, jedoch eine Wirkung auf die Granulopoese zeigte.Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß es sich bei dem Hypersplenismus um eine schon über Jahre bestehende Krankheit handelte, während die Kälbermilzen von gesunden Milzen stammten.Es könnten also krankhafte Substanzen der Hyperspleniemilzen sein, die sich von den normalen der Kälber in ihrer Wirkung auf das Knochenmark unterscheiden.

Fragestellung

Eine vergleichende Studie über die Proliferation von normalem Knochenmark mit dem Knochenmark bei Patienten mit Milztumoren (BOLL und BAUCKS(12)) zeigte eine Hemmung der Proliferation der Erythropoese sowie der Granulopoese auf. Bei vermehrter Destruktion von Erythrocyten, wie sie bei Milztumoren obligat ist, und bei entsprechendem Untergang von Granulocyten entsprechend der Leukopenie bei Milztumoren aus anderen Ursachen fand BOLL(12) ganz andere Reifungskurven und Mitoseindizes als im Knochenmark bei Milztumoren. Somit schien die Milz das Knochenmark humoral zu beeinflussen.

Um diesen Effekt zu untersuchen, bot sich als einziger kommerzieller Milzwirkstoff der von der Firma IFAH herausgebrachte Extrakt Prosplen^R an. In dieser Arbeit soll deswegen die Wirkung von Prosplen^R auf das Knochenmark untersucht werden.

Diese Untersuchungen wurden an menschlichem Knochenmark in vitro vorgenommen, um die Wirkung frei von hormonalen oder nervalen Faktoren nachzuprüfen. Ferner lassen exaktere experimentelle Bedingungen eine in vitro einer in vivo Untersuchung vorziehen.

Da verschiedene Konzentrationen unterschiedliche Ergebnisse erzielen können, wurden die Konzentrationen 1:10 und 1:100 mit einer Kontrolle gleichen Kulturmediums, nur ohne Prosplen^R, verglichen.

Zur Auswertung des Ergebnisses wurden Reifungskurven, Mitoseindizes und karyologische Kurven, die über die Reifung und Regeneration der Knochenmarkszellen Auskunft geben, herangezogen.

Methode

Die Kulturen menschlichen Knochenmarks werden nach der Carrel'schen Methode, modifiziert von BOLL(4,8), unter sterilen Bedingungen angelegt. Das Nährmedium wird aus frisch gewonnenem Blutplasma der Patienten, versetzt mit Hank'scher Lösung und Corhormon, hergestellt. Zur Gerinnung werden 50% Plasma benötigt. Ferner enthält das Medium 10% Corhormon dreifach verstärkt als Wachstumsstoff. Die Bildung eines Koagulums wird nach Auftragen eines Tropfens der Mischung auf sterile Objektträger abgewartet. Das aspirierte, durch Sternalpunktate gewonnene Mark wird auf das Koagulum aufgetragen und mit einem kleinen Serumtröpfchen bedeckt. Deckglas und Objektträger werden luftundurchlässig mit Paraffin abgedichtet.

Die Inkubation findet bei 37°C im Brutschrank statt. Nach einer Inkubationszeit von 24, 48 und 72 Stunden werden Ausstriche angefertigt und luftgetrocknet. Von jedem Knochenmarkpunktat wird ein Originalausstrich angefertigt. Die nun angewandte Färbung nach Pappenheim hat ihren Beginn mit der Farblösung nach May-Grünwald und anschließend mit einer für unsere Bedingungen erprobten Giemsa-Lösung.

Die Präparate sind wie folgt zusammengestellt:

- a) Kontrollkulturen für 24, 48 und 72 Stunden ohne Zusatz
- b) Zusatzkulturen für 24, 48 und 72 Stunden mit einem Prospenzusatz von 1:10
- c) Zusatzkulturen für 24, 48 und 72 Stunden mit einem Prospenzusatz von 1:100

Es wurden rund 2000 Zellen pro Ausstrichpräparat gezählt, wobei nur Gebiete berücksichtigt wurden, die eine gute Differenzierung der Zellen ermöglichten. Es handelte sich im wesentlichen um Randgebiete, da hier das Zellpotential aufgelockerter und damit klarer erkennbar auszuwerten war.

Wir unterteilen die Erythropoese in:

- a) Proerythroblasten
- b) basophile Erythroblasten
- c) polychromatische Erythroblasten
- d) oxyphile Erythroblasten
- e) reife Erythroblasten

Die Granulopoese unterteilen wir in:

- a) Myeloblasten
- b) Promyeloblasten
- c) Myelocyten
- d) eosinophile Myelocyten
- e) basophile Myelocyten
- f) Promonocyten
- g) Jugendliche
- h) Stabkernige
- i) Segmentkernige
- j) eosinophile Segmentkernige
- k) basophile Segmentkernige
- l) Monocyten

In der roten Reihe wurden einschließlich der oxyphilen Erythroblasten, in der weißen Reihe einschließlich der Promonocyten, die Zellklassifizierungen als teilungsfähig erkannt. Die Morphologie der einzelnen Klassifizierungen findet man hinreichend in der einschlägigen Literatur beschrieben(9, 13, 20).

Beim Auszählen der Präparate wurden nicht nur die oben genannten Zelldifferenzierungen vorgenommen, sondern auch auf die Mitosen(Teilungsphasen) der einzelnen Entwicklungsstufen der Zellen geachtet. Nach BOLL(10, 13) unterschieden wir 6 Phasen:

- | | |
|--------------------------------|--|
| a) Prophase
(festes Spirem) | :Die Chromatinteile des Kerns stellen einen vielfach gewundenen Faden dar, der in s-förmige Stücke, die Chromosomen zerfallen ist. |
|--------------------------------|--|

- b) Frühe Metaphase (lockeres Spirem) : Die Chromosomen verteilen sich in unausgerichteter Ordnung über die ganze Zelle.
- c) Späte Metaphase (Monaster) : Die Chromosomen ordnen sich strahlenförmig um die Kernspindel, welche durch die Teilung des Zentrosoms in zwei sich gegenüberliegende Pole entstanden ist, in einer Ebene (Äquatorialplatte) an.
- d) Anaphase (Diaster) : Die jeweiligen längsgeteilten Chromosomenhälften ordnen sich rosettenförmig an den gegenüberliegenden Polen, so daß jedes Zentrosom den gleichen Satz Chromosomen um sich scharf .
- e) Telophase (lockeres Dispirem) : Verschmelzung der Chromosomen zu einem neuen Kern, Teilung des Zelleibs in zwei gleiche Teile durch Einschnürung des Zytoplasmas am Äquator.
- f) Rekonstruktionsphase (festes Dispirem) : Die Tochterzellen bilden noch keine Kernmembran um ihre Kerne. Nicht selten beobachtet man Plasmabrücken zwischen den Tochterzellen.

Für jeden Patienten werden die differenzierten Zellen prozentuiert und Reifungskurven angefertigt. Die Kurven für die Erythro - und Granulopoese werden in getrennten Koordinatensystemen gegenübergestellt. Das Verhältnis von Granulo - zur Erythropoese wird als G/E - Index bezeichnet und für die vier Beobachtungszeiten 0,24,48 und 72 h zwischen den beiden Kurven in der Zeichnung eingetragen. Die prozentuale Verteilung der Mitosen, sowohl der Erythro - als auch der Granulopoese, graphisch aufgetragen, bezeichnet man als karyologische Kurve. Die Mitoseindizes werden in Promille angegeben.

In dieser Arbeit wurden von vier Patienten die Knochen -

markkulturen ausgewertet. Das bedeutet, daß ca. 68.000 Zellen differenziert wurden.

Folgende Abkürzungen wurden in den Zeichnungen angewandt:

PE = Proerythroblasten

bE = basophile Erythroblasten

pE = polychromatische Erythroblasten

oE = oxyphile Erythroblasten

rE = reife Erythroblasten

MB = Myeloblasten

P = Promyelocyten

M = Myelocyten

eM = eosinophile Myelocyten

J = Jugendliche (Metamyelocyten)

St = Stabkernige

S = Segmentkernige

eS = eosinophile Segmentkernige

Mo = Monocyten

rMI = roter Mitoseindex

wMI = weißer Mitoseindex

G/E = Verhältnis von der Granulopoese zur Erythropoese

Die Ausziehung der Kurven haben folgende Bedeutung:

—————	Kontrollkulturen
-----	Zusatzkultur (1:10 Prosplen ^R)
-.-.-.-.-	Zusatzkultur (1:100 Prosplen ^R)

Links ist die Erythropoese, rechts die Granulopoese dargestellt. Oben waagerecht sind in den Reifungskurven die Zellarten in % en nebeneinander aufgetragen, senkrecht die Kulturzeiten in Stunden mit den zeitgerechten Verschiebungen der Differenzverteilung. Links außen sind die Mitosen der Erythropoese, rechts außen die Mitosen der Granulopoese in Promille, in der Mitte die G/E-Indizes aufgeschrieben.

Patient Sch.I.(Fall I)

Einweisung: 11.1.1969

Diagnose: Thrombopenie

Knochenmark-Diagnose: Zellreiche Ausstriche, große und kleine Reticulumzellen vorhanden. Granulopoese und Megakaryocyten in allen Reifestufen. Die Vermehrung der Megakaryocyten spricht für eine Lebensdauerverkürzung der Thrombocyten. Angeregte Erythropoese, fehlende Eisenspeicherung im Reticulum sprechen für sekundäre Blutungsanämie.

Therapie bis zur Sternalpunktion am 11.1.1969:

Ascorbinsäure	1g	/die
Konakion ^R	3.10 Tr.	/die

Blutbild vom 11.1.1969:

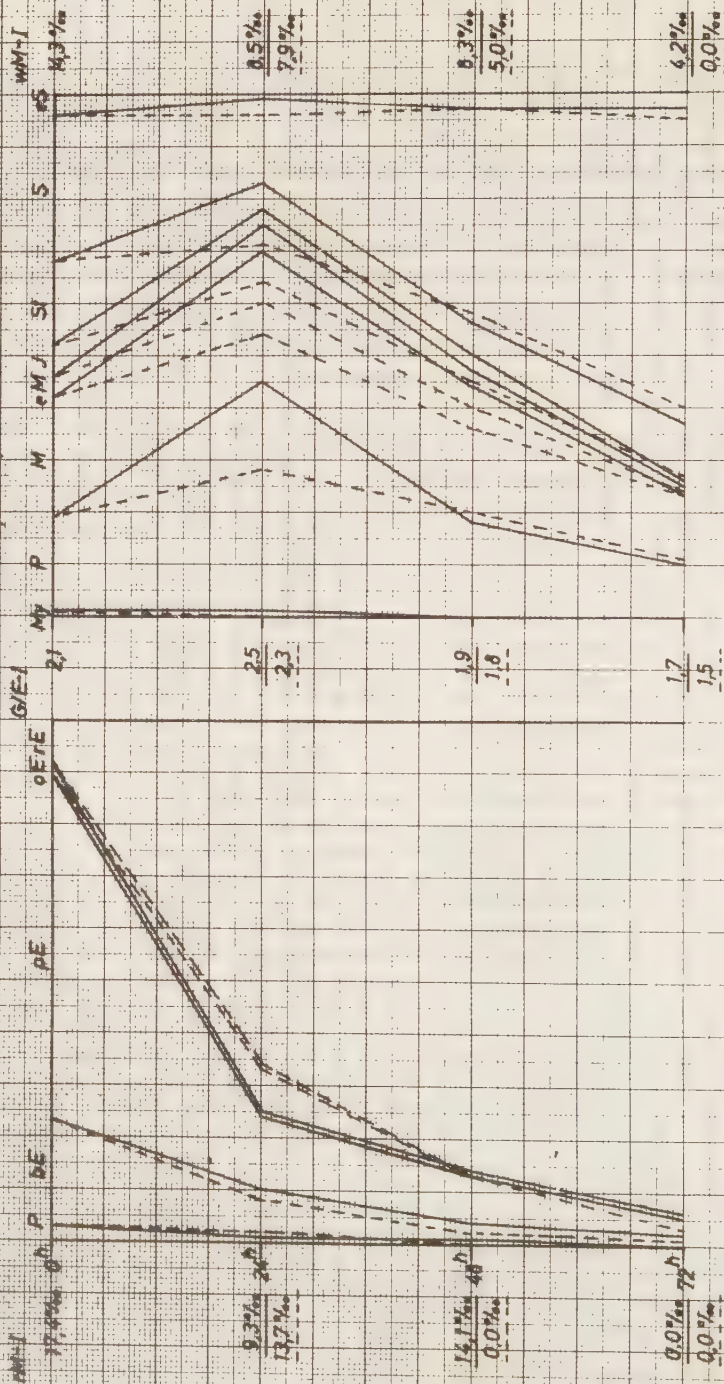
Erythrocyten	4.46	Mill./mm ³
Hb	14,0	g%
Hb _E	31,3	pg
Reticulocyten	6	%o
Leucocyten	5.000	/mm ³
Eosinophile	4	%
Stabkernige	8	%
Segmentkernige	50	%
Lymphocyten	30	%
Monocyten	8	%
Thrombocyten	35.000	/mm ³

Original: 4495

Kontrolle: 25244/242, 25244/245, 25240/249

Zusatz 1/10: 25254, 25257, 25260/261

Fall I



Kontrolle: —
Zusatz 1/10: ---

Abb. 2

Patient L.L.(Fall II)

Einweisung: 18.6.1969

Diagnose: Thrombopenie

Knochenmark-Diagnose: Granulopoese in allen Reifestufen nicht verschoben. Normale Erythropoese, normoblastisch. Megakaryocyten vermindert, vorwiegend atypisch, kaum reife Formen, aber gut PAS-pos. Die Thrombopenie beruht wahrscheinlich auf einer Bildungsstörung.

Therapie bis zur Sternalpunktion am 24.6.1969:

Valium ^R	10 mg Tbl./die
Valeriana	20+30 Tr.Tinct./die
Birutan ^R	3•1 Tbl./die

Blutbild vom 19.6.1969:

Erythrocyten	4.30	Mill./mm ³
Hb	13,8	g%
Hb _E	32,2	pg
Reticulocyten	12	%
Leucocyten	3.600	/mm ³
Eosinophile	5	%
Stabkernige	5	%
Segmentkernige	60	%
Lymphocyten	29	%
Monocyten	1	%
Thrombocyten	45.000	/mm ³

Original: 5030

Fall II

Kontrolle: 27330, 27332/333, 27335/336/337

Zusatz 1:10: 27338, 27340/341, 27342/343

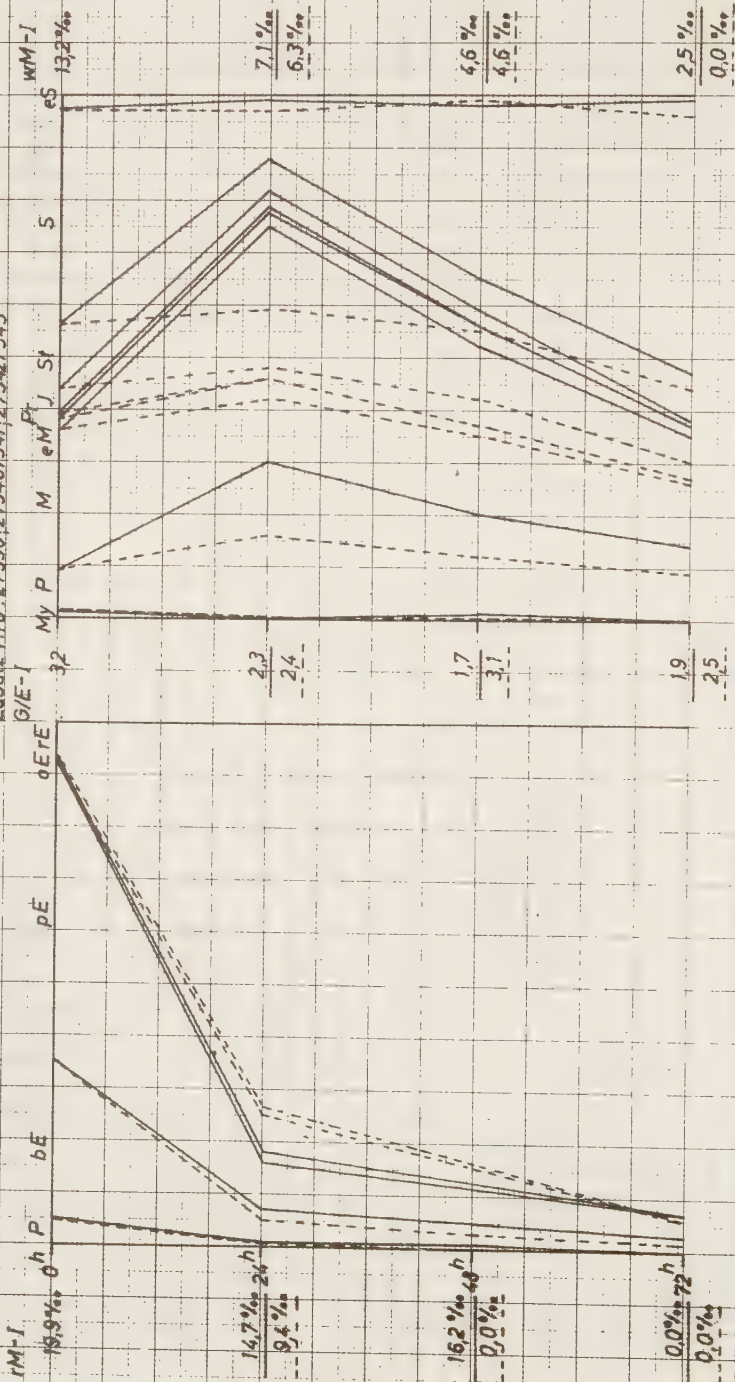


Abb. 3

Patient L.A.(Fall III)

Einweisung: 1.7.1970

Diagnose: Eisenmangelanämie

Knochenmark-Diagnose: Mittlere Zelldichte. Die Granulopoese ist normal. Die Erythropoese ist linksverschoben, normoblastisch. Megakaryocyten kommen vor.

Therapie bis zur Sternalpunktion am 13.7.1970:

Valium ^R	10 mg Tbl./die
Lanicor ^R	2.0,25 mg/die

Blutbild vom 2.7.1970:

Erythrocyten	2.23	Mill./mm ³
Hb	7,0	g%
Hb _E	31,6	pg
Leukocyten	3.800	/mm ³
Stabkernige	2	%
Segmentkernige	62	%
Lymphocyten	36	%

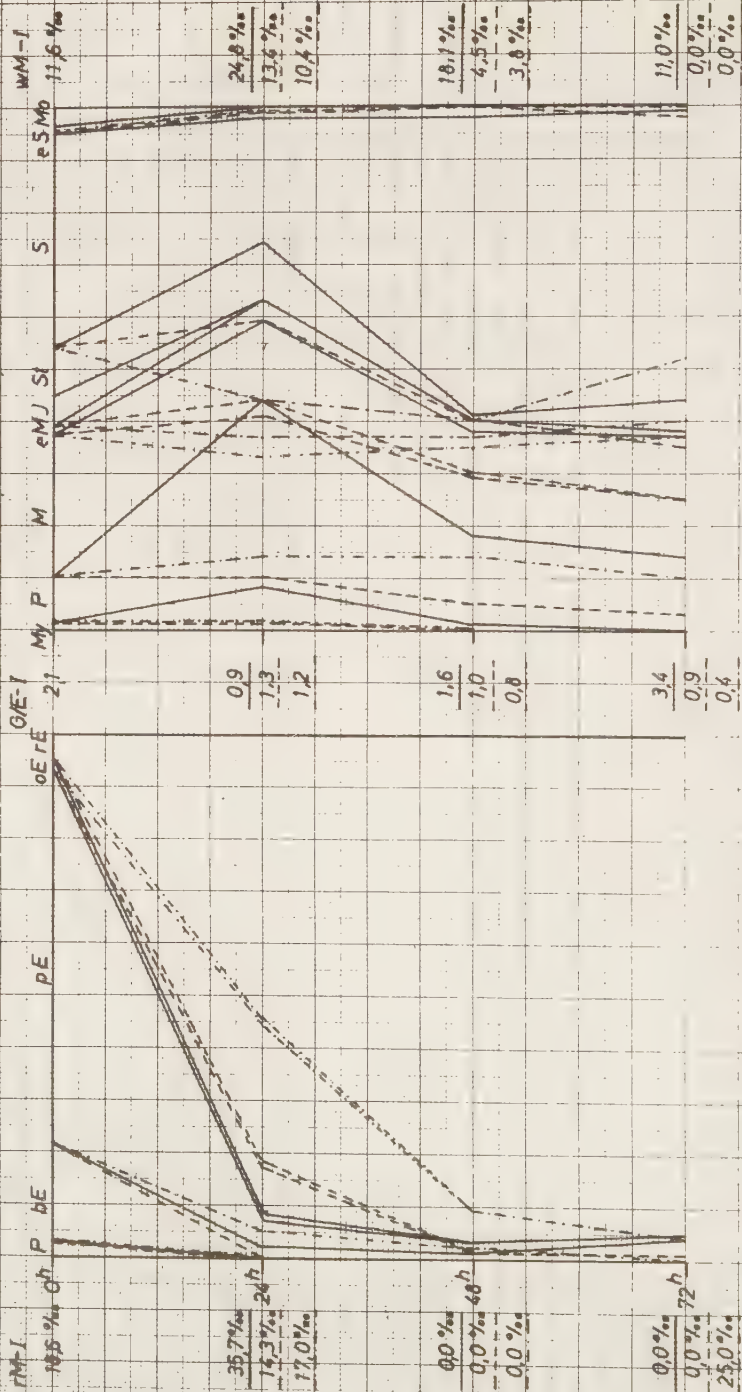
Fall III

Original: 4907

Kontrolle: 25430, 25432/433, 25435/436

Zusatz 1:10: 25438/440, 25442/443, 25444/445

Zusatz 1:100: 25447/448, 25450/452, 25453/454



Kontrolle: ———

Zusatz 1:10: - - -

Zusatz 1:100: - - -

Abb. 4

Patient Sch.Ch.(Fall IV)

Einweisung: 18.3.1969

Diagnose: Anämie bei Nieren-Tumor re.

Knochenmark-Diagnose: Sekundäre Tumorzeichen. Große und kleine Reticulumzellen normal vorhanden, aber phagocytierende Reticulumzellen kommen vermehrt vor. Plasmazellen etwas vermehrt und sehr reif. Granulopoese in allen Reifestufen vertreten, vorwiegend Stabkernige. Erythropoese in allen Reifestufen vorhanden, etwas linksverschoben, normoblastisch. Megakaryocyten kommen in allen Reifestufen reichlich vor.

Therapie bis zur Sternalpunktion am 3.3.1969:

Kalium jodat. ^R	3g	/die
Valium ^R	5mg Tbl.	/die
Ferrlecit ^R	80mg Tbl.	/die
Lanicor ^R	3.0, 25mg Tbl.	/die

Blutbild vom 19.3.1969:

Erythrocyten	3.35	Mill./mm ³
Hb	9,1	g%
Hb _E	27,7	pg
Leukocyten	7.600	/mm ³
Stabkernige	2	%
Segmentkernige	86	%
Lymphocyten	10	%
Monocyten	2	%

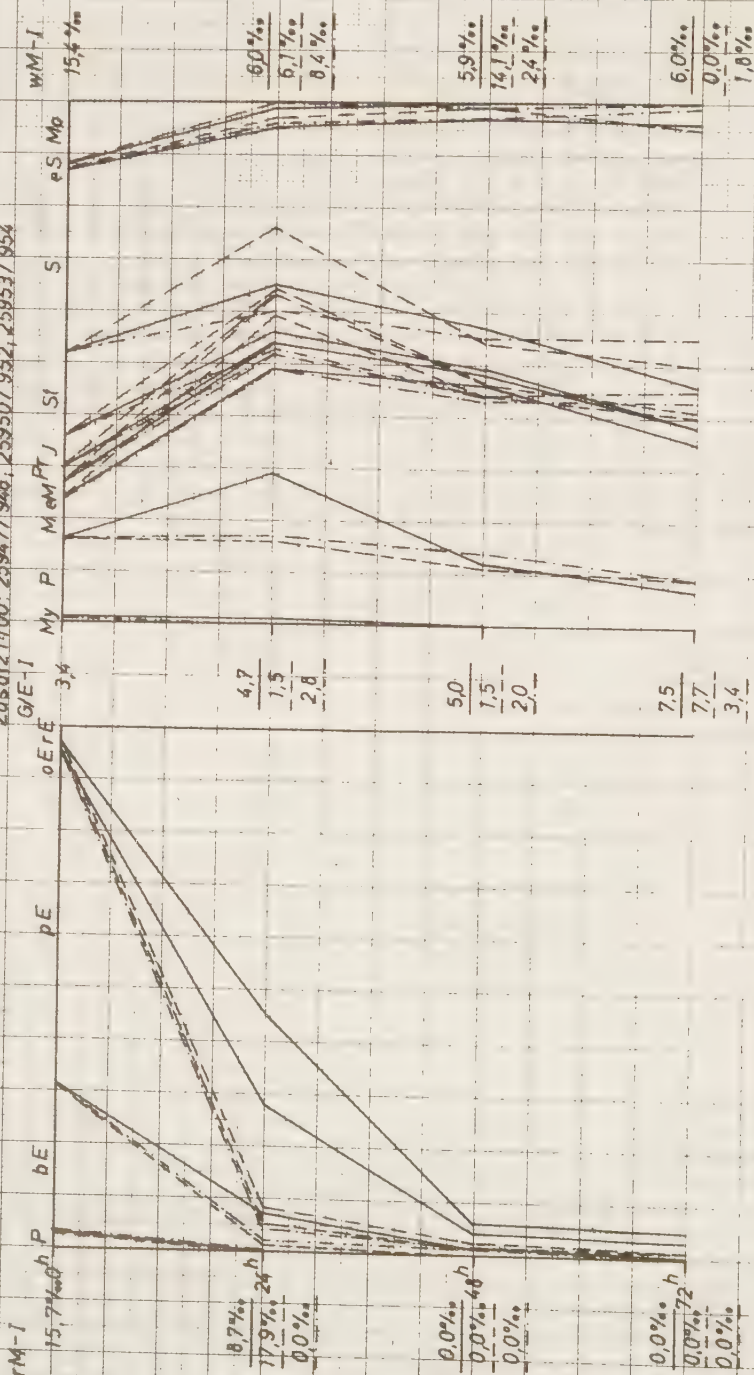
Original: 4930

Kontrolle: 2591/25914/915, 25917/918

Zusatz 1:10: 25938/940, 25941/942, 25944/946

Zusatz 1:100: 25947/948, 25950/952, 25953/954

Fall IV



Kontrolle: —
Zusatz 1:10: —
Zusatz 1:100: - - -

Abb. 5

Die Signifikanzberechnung

Die Signifikanzberechnungen wurden nach dem in neuerer Zeit immer häufiger angewandtem χ^2 -Test durchgeführt. Dieses Verfahren geht zurück auf Pearson. Nach graphischer Vergleichsbetrachtung ist der χ^2 -Test eine wertvolle mathematische Ergänzung. Dieser Test gibt uns einwandfrei Signifikanzen in der Granulopoese und in der Erythropoese an. Wir vergleichen in dieser Arbeit immer zwei Zählreihen und zwar Kontrolle und Zusatz 1 : 10 Prosplen^R sowie Kontrolle und Zusatz 1 : 100 Prosplen^R. Folgende Zeichen machen das Verfahren übersichtlicher :

B = Zellzahl, der einzelnen Klasse, in den Zusatzkulturen (Beobachtungswert)

B' = Zellzahl, der einzelnen Klasse, in den Kontrollkulturen (B'eobachtungswert)

E = $\frac{B+B'}{2}$ (Erwartungswert, wenn $S_B = S_{B'}$)

Unterscheiden sich die Summe der Kontrollkulturen ($S_{B'}$) von der Summe der Zusatzkulturen (S_B), dann kommt die Nullhypothese zur Anwendung :

$$B + B' = B_{\text{ges.}} \cdot \frac{B_{\text{ges.}}}{S_B + S_{B'}} = p \text{ (Wahrscheinlichkeit)}$$

p wird dann mit S_B bzw. $S_{B'}$ multipliziert, und wir erhalten E.

$\Delta = B \text{ bzw. } B' - E$ (absoluter Wert)

χ^2 = die Summe aller $\frac{\Delta^2}{E}$

Somit lautet die Formel zur Berechnung von χ^2 :

$$\chi_{\text{mf}}^2 = \sum \frac{(B \text{ bzw. } B' - E)^2}{E} \quad \text{od.} \quad \sum \frac{\Delta^2}{E}$$

wobei mf die Anzahl der Freiheitsgrade bedeutet. Die Freiheitsgrade errechnen sich aus : Anzahl der Klassen minus eins multipliziert mit Gruppen minus eins. In unserem Fall vergleichen wir stets zwei Gruppen, nämlich Kontrolle mit

Zusatz, so daß der Multiplikator immer eins sein muß und entfallen kann. Wollen wir nun die Übereinstimmung oder Nichtübereinstimmung beurteilen, so müssen wir den zu jedem X^2 - Wert gehörigen p - Wert feststellen. Die in dieser Arbeit ermittelten Werte wurden den von Patau konstruierten graphischen Tafeln entnommen (6, 14).

- p > 0,05% : Signifikanz beider Gruppen zufallsbedingt
- 0,05% > p > 0,01% : Daß beide Gruppen der gleichen Grundgesamtheit angehören, muß angezweifelt werden
- 0,01% > p > 0,0027% : Signifikanz beider Gruppen ist statistisch gesichert
- p < 0,0027% : Signifikanz beider Gruppen ist sehr gut statistisch abgesichert

Beispiel:

Fall I

Erythropoese

Zusatz 1:10 Prosplen^R nach 24 h in vitro

	B'	B	B _{ges.}	P	E'	E	$\frac{(B' - E')^2}{E'}$	$\frac{(B - E)^2}{E}$
PE =	4	9	13	0,0152	6,46	6,58	0,94	0,89
bE =	38	25	63	0,0734	31,35	31,75	1,4	1,44
pE =	61	108	169	0,1970	83,70	85,30	6,15	6,04
oE =	4	4	8	0,0093	3,96	4,03	0,00	0,00
rE =	318	287	605	0,7050	299,20	305,00	1,18	1,06
	425	433	858				$X_1^2 = 9,67$	$X_2^2 = 9,43$

$$X^2 = X_1^2 + X_2^2 = 19,10$$

$$X_4^2 = 19,10 \hat{=} p = 0,0008$$

Das X^2 - Verfahren ergibt eine Signifikanz, die sehr gut statistisch abgesichert ist. An Hand der Zahlen im Beispiel erkennen wir auch, wo die Signifikanz zu suchen ist, nämlich bei den polychromatischen Erythroblasten, was sich natürlich

auch in der graphischen Darstellung dieser Untersuchungsergebnisse ablesen läßt.

Signifikanztabelle:

Patient mit Prosplen ^R	Erythropoese			Granulopoese		
	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Fall I 1:10	+	-	-	+	+	+
Fall II 1:10	+	(+)	-	+	+	+
Fall III 1:10	+	(+)	+	+	+	+
Fall III 1:100	+	+	+	+	+	+
Fall IV 1:10	+	-	-	+	+	+
Fall IV 1:100	+	(+)	-	+	+	+

Tab.1

- = Der Unterschied beider Gruppen ist zufallsbedingt
- (+) = Daß beide Gruppen der gleichen Grundgesamtheit angehören, muß angezweifelt werden
- + = Signifikanz beider Gruppen statistisch gesichert
- +! = Signifikanz beider Gruppen ist sehr gut statistisch abgesichert

Aus der Tabelle 1 können wir entnehmen, daß in der Erythropoese bei allen Patienten, sowohl bei 1:10 Prosplen^R als auch bei 1:100 Prosplen^R, nach 24 Stunden die Signifikanz sehr gut statistisch abgesichert ist. Im Fall III trifft das auch noch für 72 Stunden zu und bei 1:100 Prosplen^R auch noch für 48 Stunden. In allen anderen Fällen ist mit dem χ^2 -Test kein statistisch gesicherter signifikanter Unterschied zwischen Kontroll- und Zusatzkulturen nach

48 Stunden und 72 Stunden, sowohl bei 1:10 Prosplen^R als auch bei 1:100 Prosplen^R zu errechnen.

In der Granulopoese ist bei allen Patienten, sowohl bei 1:10 Prosplen^R als auch bei 1:100 Prosplen^R nach 24, 48 und 72 Stunden die Signifikanz beider Gruppen statistisch gesichert bzw. häufig sehr gut gesichert. Bei welcher Zellklasse bzw. Zellklassen der Schwerpunkt des signifikanten Unterschieds zu suchen ist, läßt sich unschwer aus den Tabellen 2 - 7 ablesen. Die Zellklassen stehen in den Tabellen links außen und gelten für 24, 48 und 72 Stunden entsprechend der jeweiligen Reihe. In den Spalten Kontrolle und Zusatz liegt der Schwerpunkt der Signifikanz bei den höchsten Werten.

24^h48^h72^h

24 ^h			48 ^h			72 ^h		
Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz	Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz	Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz
%	%	(B-E) ² /E	%	%	(B-E) ² /E	%	%	(B-E) ² /E
PE = 1	2	1,83	1	0	2,48	0	0	0,89
bE = 9	6	2,84	3	2	0,79	2	1	1,93
pE = 14	25	12,19	9	11	1,06	3	3	0,03
oE = 1	1	0,00	1	0	2,48	1	0	5,67
rE = 75	66	2,24	86	87	0,01	94	96	0,14
n = 425	433	$X_4^2 = 19,10 \hat{=} p = 0,0008$	512	469	$X_4^2 = 6,82 \hat{=} p = 0,15$	553	523	$X_4^2 = 8,66 \hat{=} p = 0,07$
MB = 1	0	4,78	0	0	0,00	0	0	0,84
F = 44	28	34,85	18	20	1,07	10	11	0,47
M = 25	26	0,10	26	16	22,58	13	12	0,41
eM = 5	6	0,84	3	4	1,75	2	1	2,90
J = 3	4	1,00	3	5	4,34	1	3	8,62
St = 5	7	3,32	6	13	23,71	11	13	1,41
S = 16	25	19,83	41	39	0,39	60	55	0,92
AS = 1	4	20,15	3	3	0,00	3	5	4,51
n = 1055	987	$X_7^2 = 84,87 \hat{=} p < 10^{-10}$	965	891	$X_7^2 = 53,84 \hat{=} p = 10^{-9}$	912	778	$X_7^2 = 20,08 \hat{=} p = 0,004$

24 ^h				48 ^h				72 ^h			
Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz		Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz		Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz	
%	%	(B-E) ² /E		%	%	(B-E) ² /E		%	%	(B-E) ² /E	
PE = 0	0	0,33		0	0	3,38		0	0	2,94	
bE = 2	0	4,26		1	0	3,40		0	0	14,76	
pE = 5	17	18,24		2	1	3,19		1	1	0,19	
oE = 2	1	0,51		0	0	0,17		0	0	0,14	
rE = 92	82	1,50		97	99	0,16		99	99	0,27	
n = 298	384	$X^2_4 = 24,84 \hat{=} p = 0,00005$		438	725	$X^2_4 = 10,30 \hat{=} p = 0,035$		576	576	$X^2_4 = 18,30 \hat{=} p = 0,0012$	
MB = 8	1	29,64		1	0	4,20		0	0	1,49	
P = 36	9	67,35		17	5	55,36		3	3	39,05	
M = 15	31	18,08		20	24	2,33		22	22	0,11	
eM = 4	3	0,93		2	1	3,72		1	0	3,51	
J = 0	0	0,26		0	0	0,39		0	0	0,64	
St = 11	15	2,56		1	10	52,20		6	10	6,37	
S = 24	40	12,82		57	60	0,66		54	63	4,42	
eS = 2	1	2,23		2	0	6,80		1	2	0,11	
n = 255	509	$X^2_4 = 133,87 \hat{=} p < 10^{-10}$		700	743	$X^2_4 = 123,66 \hat{=} p < 10^{-10}$		519	519	$X^2_4 = 55,70 \hat{=} p = 10^{-9}$	

Tab. 3

24 ^h				48 ^h				72 ^h			
Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz	(B-E) ² /E	Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz	(B-E) ² /E	Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz	(B-E) ² /E
%	%	%		%	%	%		%	%	%	
PE =	0	0	2,08	0	0	3,37		0	0	4,79	
bE =	2	5	3,57	1	2	0,89		4	0	26,00	
pE =	5	39	81,00	2	7	13,13		1	4	3,15	
oE =	2	1	0,12	0	0	0,15		(0)	(0)	-	
rE =	<u>92</u>	<u>55</u>	<u>39,35</u>	<u>97</u>	<u>91</u>	<u>0,79</u>		<u>95</u>	<u>96</u>	<u>0,05</u>	
n =	298	653	$\chi^2_4 = 126,12 \hat{=} p < 10^{-10}$	438	756	$\chi^2_4 = 18,33 \hat{=} p = 0,0013$		211	969	$\chi^2_5 = 33,99 \hat{=} p = 10^{-6},8$	
MB =	8	1	38,07	1	0	1,46		0	0	1,09	
P =	36	13	55,05	17	14	3,55		14	10	3,26	
M =	15	19	1,86	20	21	0,10		23	27	1,73	
eM =	4	4	0,00	2	2	0,00		1	3	5,01	
J =	0	0	0,06	0	0	1,79		0	0	1,14	
St =	11	7	3,59	1	3	7,07		6	12	11,61	
S =	24	55	37,23	57	60	0,64		54	48	2,21	
eS =	<u>2</u>	<u>1</u>	<u>0,17</u>	<u>2</u>	<u>0</u>	<u>5,26</u>		<u>1</u>	<u>0</u>	<u>4,89</u>	
n =	255	780	$\chi^2_7 = 136,03 \hat{=} p < 10^{-10}$	700	623	$\chi^2_7 = 19,87 \hat{=} p = 0,006$		710	410	$\chi^2_7 = 30,94 \hat{=} p = 0,00006$	

Prospelen^R 1:10

Fall IV

24 ^h				48 ^h				72 ^h			
Kontr.	Zusatz	Kontr.+ Zusatz	(B-E) ² /E	Kontr.	Zusatz	Kontr.+ Zusatz	(B-E) ² /E	Kontr.	Zusatz	Kontr.+ Zusatz	(B-E) ² /E
%	%	%		%	%	%		%	%	%	
PE = 0	0	0,53	$X_4^2 = 177,95 \hat{=} p < 10^{-10}$	0	0	0,44	$X_4^2 = 8,17 \hat{=} p = 0,085$	0	0	0,83	$X_4^2 = 2,38 \hat{=} p = 0,66$
bE = 7	1	26,87		1	0	1,09		0	0	0,02	
pE = 21	5	56,05		3	1	4,42		3	1	0,79	
oE = 17	2	68,44		2	1	0,99		2	0	0,67	
rE = 55	92	31,06		94	98	0,23		95	92	0,06	
n = 256	695			280	695			175	145		
MB = 1	0	0,74	$X_4^2 = 170,72 \hat{=} p < 10^{-10}$	0	0	0,55	$X_8^2 = 25,32 \hat{=} p = 0,00131305$	0	0	1,77	$X_8^2 = 25,64 \hat{=} p = 0,0013$
P = 28	16	36,35		12	11	0,37		7	9	2,58	
M = 20	43	98,40		34	33	0,26		28	31	2,04	
eM = 5	4	1,03		2	2	0,04		3	1	11,65	
Fm = 0	0	2,82		-	-	-		-	-	-	
J = 2	1	0,84		1	0	5,51		0	0	2,67	
St = 9	12	4,43		8	8	0,00		8	9	0,59	
S = 30	21	13,6		40	41	3,78		50	45	2,76	
eS = 4	3	1,05		3	1	14,05		4	5	1,13	
Mo = 1	0	5,36		0	0	0,66		0	0	0,45	
n = 1215	1024			1385	1074			1305	1112		

Tal. 5

Prospelen^R 1:100

Fall IV

24 ^h				48 ^h				72 ^h			
Kontr.	Zusatz	Kontr.	Zusatz	Kontr.	Zusatz	Kontr.	Zusatz	Kontr.	Zusatz	Kontr.	Zusatz
%	%	%	(B-E) ² /E	%	%	%	(B-E) ² /E	%	%	%	(B-E) ² /E
RE = 0	0	0	0,96	0	0	0	0,21	0	0	0	1,67
RE = 7	2	1	11,17	1	1	0	0,47	0	0	0	0,33
RE = 21	2	3	55,22	1	1	3	3,07	3	1	1	2,47
RE = 17	1	2	53,51	0	0	2	6,34	2	0	0	1,92
RE = 55	95	94	35,04	98	98	95	0,18	99	99	99	0,19
n = 256	395	280	$\chi^2_4 = 155,90 \hat{=} p < 10^{-10}$	532	532	175	$\chi^2_4 = 10,27 \hat{=} p = 0,035$	385	385	385	$\chi^2_4 = 6,58 \hat{=} p = 0,16$
MB = 1	0	0	0,50	0	0	0	0,55	0	0	0	0,36
P = 28	17	12	32,60	14	14	7	1,50	9	9	7	3,24
M = 20	32	34	32,80	29	29	28	5,13	34	34	28	7,70
eM = 5	3	2	5,26	1	1	3	3,57	2	2	3	2,73
PM = 0	0	-	1,71	-	-	-	-	-	-	-	-
J = 2	1	1	0,83	0	0	0	1,06	0	0	0	1,03
St = 9	7	8	3,24	11	11	8	8,95	10	10	8	2,66
S = 30	36	40	4,49	42	42	50	0,69	44	44	50	4,59
eS = 4	4	3	0,80	2	2	4	2,52	1	1	4	23,65
Mo = 1	0	0	6,09	1	1	0	3,37	0	0	0	0,34
n = 1215	1120	1385	$\chi^2_9 = 87,52 \hat{=} p < 10^{-10}$	1055	1055	1305	$\chi^2_8 = 27,44 \hat{=} p = 0,0006$	1316	1316	1316	$\chi^2_8 = 46,30 \hat{=} p = 10^{-5},8$

Tab.6

Prosplen^R 1:10

Fall II

24 ^h				48 ^h				72 ^h			
Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz		Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz		Kontr.	Zusatz	Kontr. + Zusatz	
%	%	(B-E) ² /E		%	%	(B-E) ² /E		%	%	(B-E) ² /E	
PE = 1	1	0,08		1	0	1,51		0	0	1,05	
bE = 6	4	1,99		4	3	0,56		2	1	1,11	
pE = 9	20	16,66		7	13	7,25		5	5	0,01	
oE = 2	1	1,12		1	0	3,51		-	-	-	
rE = 82	74	1,58		87	84	0,22		93	24	0,01	
n = 376	412	X ₄ ² = 21,43 = p = 0,00028		474	334	X ₄ ² = 13,05 = p = 0,011		553	295	X ₃ ² = 2,18 = p = 0,53	
MB = 0	0	2,58		1	0	3,46		0	0	1,35	
P = 30	16	39,20		19	12	14,88		14	9	8,93	
M = 45	26	46,20		26	23	1,73		21	17	3,14	
eM = 3	4	1,10		4	2	5,80		2	1	3,37	
PM = 1	0	9,30		0	0	5,01		-	-	-	
J = 3	2	2,70		3	5	8,35		1	3	10,13	
St = 6	11	13,45		6	13	21,80		9	14	9,54	
S = 11	38	13,75		38	44	3,88		52	52	0,00	
eS = 1	3	9,91		3	1	10,31		1	4	17,85	
n = 857	984	X ₈ ² = 138,19 = p < 10 ⁻¹⁰		812	1034	X ₈ ² = 74,22 = p < 10 ⁻¹⁰		1054	735	X ₇ ² = 54,31 = p = 10 ⁻⁹	

Tab. 7

Ergebnisse

1. Das Differentialzellbild der Knochenmarkzellen

Wir fassen nunmehr die Werte aller vier Patienten zusammen und stellen sie, wie in den individuellen Kurven der einzelnen Patienten, in ihrer prozentualen Verteilung als Funktion der Zeit, als Mittelwertreifungskurven für die Konzentrationen 1:10 bzw. 1:100 Prosplen^R dar (Abb. 6 und 7). Bei der Bildung des Mittelwerts - in der Erythropoese - müssen wir den Fall IV herauslassen, da er das Gesamtbild verfälschen würde. Damit entfällt die Mittelwertkurve der Erythropoese für den Zusatz 1:100 Prosplen^R.

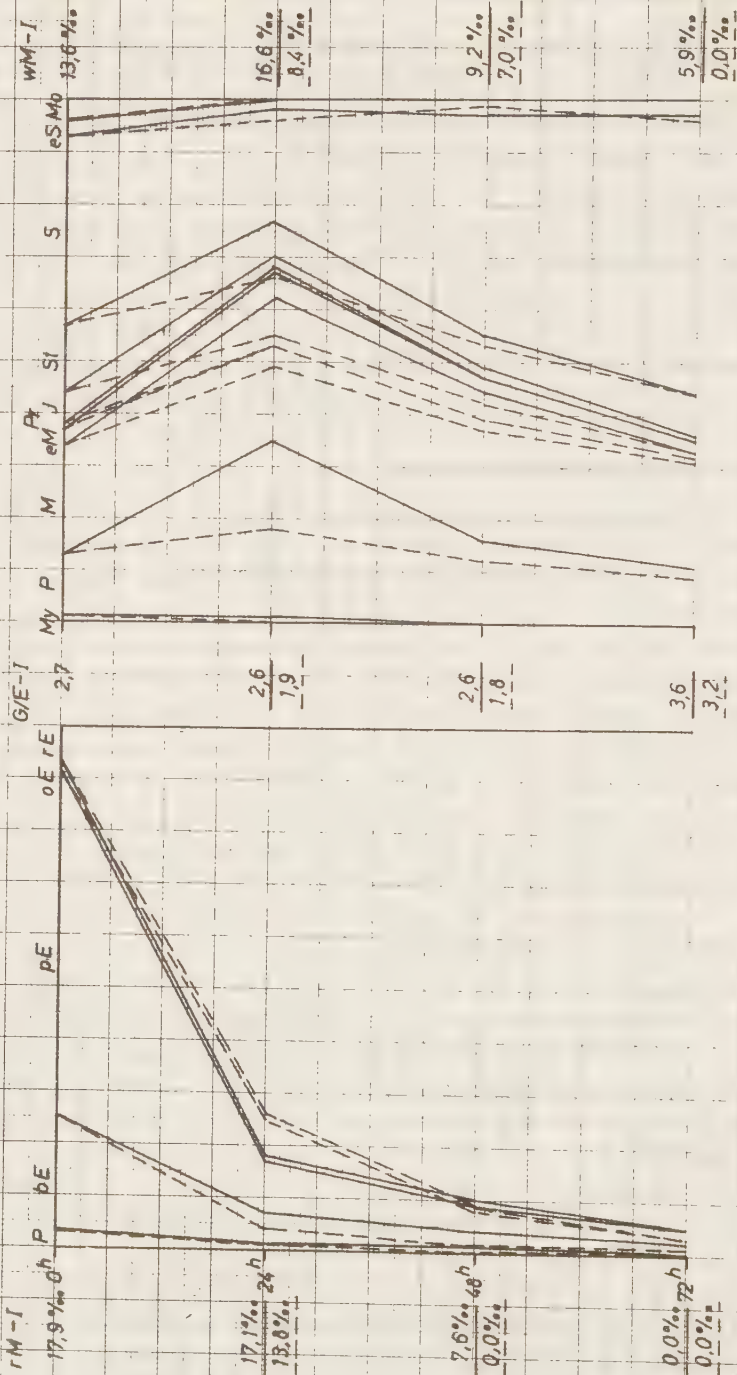
a) Reifung der Erythropoese

Aus den Kurven der Kontrollkulturen ist abzulesen, daß nach 24 Stunden und noch weiter nach 48 und 72 Stunden gegenüber dem Originalausstrich eine prozentuale Verminderung der Proerythroblasten und oxyphilen Erythroblasten, besonders aber, gerade bis 24 Stunden, der basophilen und polychromatischen Erythroblasten vorkommt. Die reifen Erythroblasten nehmen dementsprechend bis 24 Stunden stark zu. Im Verlauf des zweiten Inkubationstages nehmen alle unreifen Erythroblasten weiter ab bis auf die oxyphilen Erythroblasten, die unverändert bleiben. Bis 72 Stunden kommt es zu einer weiteren geringfügigen Ausreifung. Somit reifen die Erythroblasten in vitro stark aus.

Bei den Zusatzkulturen 1:10 Prosplen^R kann man im Vergleich zu den Kontrollkulturen bis 24 Stunden bezüglich der Proerythroblasten und der oxyphilen Erythroblasten keinen Unterschied feststellen. Die basophilen Erythroblasten reifen prozentual schneller, die polychromatischen Erythroblasten wesentlich langsamer aus. Somit überwiegt bis 24 Stunden eine Reifungsförderung der basophilen Erythroblasten. Nach 48 Stunden und noch weiter nach 72 Stunden kommt es, besonders durch die nunmehr ebenfalls starke Abnahme der polychromatischen Erythroblasten, zu einer stärkeren Ausreifung als bei den Kontrollkulturen.

Für die Zusatzkultur 1:100 Prosplen^R lassen sich nur die Reifungskurven von Fall IV S. 18 und Fall III S. 16 den jeweiligen Kontrollkulturen gegenüberstellen.

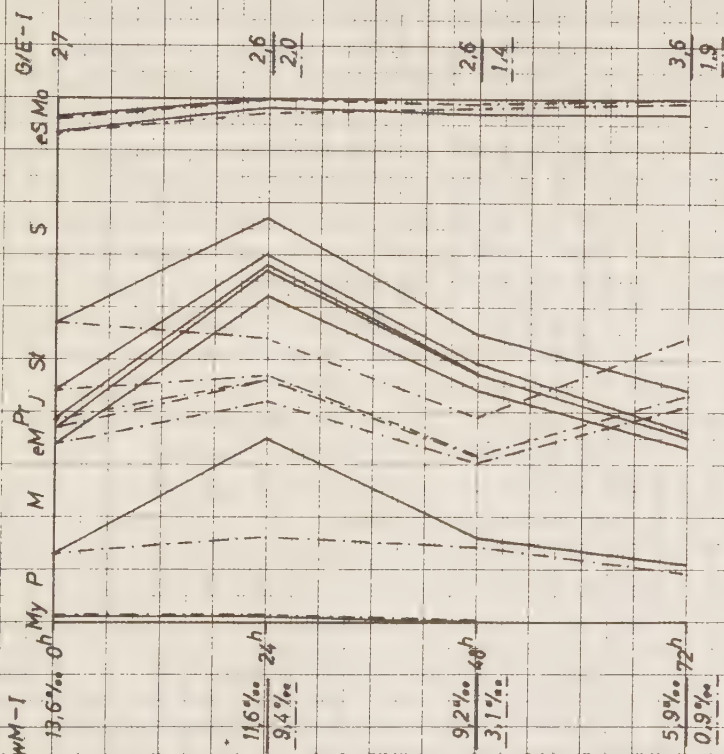
Mittelwertkurven A



Kontrolle
1:10 Prospelenkonzentration

Abb. 6

Mittelwertkurven B



Kontrolle:
1:10 Prosplenkonzentration:

Abb. 7

Im Fall III nehmen bei den Kontrollkulturen alle unreifen Entwicklungsstufen der Erythropoese, besonders die basophilen und polychromatischen Erythroblasten, bis 24 Stunden stark ab. Bis zum zweiten Inkubationstag findet eine weitere Zunahme der reifen Erythroblasten statt. Bis 72 Stunden kommt es zur leichten Abnahme der reifen durch Zunahme der basophilen Erythroblasten.

Beim Zusatz 1:100 Prosplen^R kommt es bis 24 Stunden zu einer Reifungsverzögerung besonders durch die mangelnde Verminderung der polychromatischen aber auch ein wenig durch die der basophilen Erythroblasten. Eine Ausreifung findet zwar bis 48 Stunden weiterhin statt, aber viel geringer als bei den Kontrollen. Erst bei 72 Stunden hat die Ausreifung des Zusatzes mit den Kontrollen gleichgezogen.

Ganz anders sieht der Fall IV aus, wo wir nach der Besprechung der Kontrollkurven noch die Zusatzkurven 1:10 Prosplen^R diskutieren müssen, da diese nicht wie im Fall III in die Mittelwertkurve integriert werden können. Die Reifung ist in den Kontrollkurven im Gegensatz zu den Mittelwertkurven der anderen drei Fälle bis 24 Stunden wenig ausgeprägt. Erst nach 48 und 72 Stunden stimmen sie wieder mit den anderen Fällen (Abb. 2 bis 6) annähernd überein. Die Ausreifung bei den Zusatzkulturen 1:10 Prosplen^R ist in allen unreifen Entwicklungsstufen bis 24 Stunden enorm beschleunigt. Diese Vermehrung der reifen Zellen nimmt bis 72 Stunden noch stetig zu. Die Ausreifung bei 1:100 Prosplen^R ist gegenüber dem Zusatz 1:10 Prosplen^R noch um einen geringen Prozentsatz beschleunigt.

Zusammenfassend läßt sich in drei von vier Fällen eine signifikante Reifungshemmung, beim Fall IV (Nieren-Tumor) eine signifikante Reifungsförderung durch beide Zusatzkonzentrationen, erkennen. Prinzipiell läßt sich feststellen, daß verschieden starke Zusätze von Prosplen^R gleiche Abweichungen bezüglich der Reifung zeigen.

b) Reifung der Granulopoese

Sehen wir uns den Verlauf der Kurven in der Granulopoese an (Abb. 6 und 7), so stellen wir fest, daß die Kontroll-

kulturen nach 24 Stunden eine Zunahme der Promyelocyten, Myelocyten und der eosinophilen Myelocyten gegenüber dem Originalausstrich zeigen. Die reiferen Formen, Jugendliche, Stabkernige, Segmentkernige, eosinophile Segmentkernige und Monocyten, sind vermindert. Mit zunehmender Bebrütungszeit, nach 48 Stunden, nehmen die Promyelocyten wieder stark ab, während die Myeloblasten, Myelocyten, eosinophilen Myelocyten und Promonocyten nur geringe Verminderung zeigen. Die Jugendlichen, Stabkernigen und Monocyten halten ihre Prozentzahl bei starker Zunahme der Segmentkernigen und bei geringer Zunahme der eosinophilen Segmentkernigen. Nach 72 Stunden haben die unreifen Formen weiter abgenommen, während die Stabkernigen und Segmentkernigen weiterhin zunehmen. Die nach 24 Stunden deutliche Linksverschiebung nimmt mit zunehmender Bebrütungszeit ab.

Vergleichen wir nunmehr die Zusatzkulturen 1:10 Pro - splen^R mit den Kontrollkulturen, so fällt auf, daß die Zunahme der Promyelocyten, Myelocyten und der eosinophilen Myelocyten in den ersten 24 Stunden viel geringer ist, und es bei den Myeloblasten, Promonocyten, Jugendlichen, Stabkernigen, eosinophilen Segmentkernigen und Monocyten zur relativen Abnahme kommt. Nur die Segmentkernigen nehmen zu. Bis zu 48 Stunden und 72 Stunden nehmen alle unreifen Formen weiter gering ab, während die reiferen Formen, besonders die Segmentkernigen, relativ zunehmen.

Im Vergleich 1:100 Prosplen^R mit den Kontrollkulturen (Abb. 7) stellen wir prinzipiell die gleichen Abweichungen nach 24 - 48 Stunden fest, aber hochgradiger. Nach 72 Stunden kommt es aber zu einer Art Gegenregulation: Die Teilungsfähigen nehmen wieder zu.

Insgesamt kann man sagen, daß sowohl bei 1:10 Prosplen^R als auch bei 1:100 Prosplen^R nach 24 Stunden die Linksverschiebung der Kontrollen fast entfällt. Bei 1:10 Prosplen^R kommt es dann wie bei den Kontrollkulturen nach 48 Stunden und 72 Stunden zu einer Ausreifung. Im Gegensatz dazu zeigt sich bei 1:100 Prosplen^R nach 72 Stunden eine Verschiebung zugunsten der unreifen Formen, also eine deutliche Reifungshemmung. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Zelltypen werden in den Tabellen 2 - 7 mit

dem χ^2 -Test ermittelt.

2. G/E - Index

Der G/E-Index ist das Verhältnis der Summe aller Zellen der Granulopoese zur Summe aller Zellen der Erythropoese. Quantitative Verschiebungen werden nicht nur im Originalausstrich, sondern auch bei 24, 48 und 72 Stunden, sowohl in den Kontroll- als auch in den Zusatzkulturen beobachtet.

G/E-Indizestabelle:

Tab.8

Patient	Kontrolle				Zusatz 1:10 Prosplen ^R		
	0 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Fall I	2,1	2,5	1,9	1,7	2,3	1,8	1,5
Fall II	3,2	2,3	1,7	1,9	2,4	3,1	2,5
Fall III	2,1	0,9	1,6	3,4	1,3	1,0	0,9
Fall IV	3,4	4,7	5,0	7,5	1,5	1,5	7,7
Arithm.-							
Mittel	2,7	2,6	2,4	3,6	1,9	1,9	3,1

Patient	Kontrolle				Zusatz 1:100 Prosplen ^R		
	0 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Fall III	2,1	0,9	1,6	3,4	1,2	0,8	0,4
Fall IV	3,4	4,7	5,0	7,5	2,8	2,0	3,4
Arithm.-							
Mittel	2,8	2,8	3,3	5,5	2,0	1,4	1,0

ROHR(29) hat für ein normales Knochenmarkpunktat einen G/E-Index von 3:1 angegeben. Das trifft in unseren Versuchen für die Fälle IV und II zu (Tab.8). Es handelt sich in den beiden Fällen um das Krankheitsbild eines Tumors der rechten Niere und um eine Thrombopenie. In den beiden anderen Fällen stellen wir einen erniedrigten G/E-Index von ca. 2:1 fest, was auf eine angeregte Erythropoese hinweist, wobei der eine Fall das Krankheitsbild einer Thrombopenie (z. ZT. ohne Anämie), der andere Fall III das einer Eisenmangelanämie zeigt.

Bei zunehmender Bebrütungszeit verhalten sich die Kon-

troll-und Zusatzkulturen recht wechselhaft bezüglich der G/E-Indizes.

Bildet man das arithmetische Mittel, so gelangt man zu der Schlußfolgerung, daß bei längerer Inkubationszeit im Vergleich Kontrolle mit dem Zusatz 1:10 Prosplen^R die Kontrolle den Normalwert 3:1 annähernd beibehält, während er bei dem Zusatz leicht abnimmt. Das gleiche gilt stärker auch für den Zusatz 1:100 Prosplen^R, was bei beiden Zusätzen für eine Zunahme der roten Knochenmarkzellen bei gleichzeitiger Abnahme der weißen Knochenmarkzellen spricht (Tab.8).

Tab.9

Erythropoese

Patient	0 ^h	Kontrolle			Zusatz 1:10 Prosplen ^R		
		24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Fall I	17,4	9,3	14,1	0,0	13,7	0,0	0,0
Fall II	19,9	35,7	0,0	0,0	14,3	0,0	0,0
Fall III	18,6	8,7	0,0	0,0	17,9	0,0	0,0
Fall IV	15,7	14,7	16,2	0,0	9,4	0,0	0,0
Arithm.-Mittel	17,9	17,1	7,6	0,0	13,8	0,0	0,0

Patient	0 ^h	Kontrolle			Zusatz 1:100 Prosplen ^R		
		24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Fall III	18,6	8,7	0,0	0,0	17,0	0,0	25,0
Fall IV	15,7	14,7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Arithm.-Mittel	17,2	11,7	0,0	0,0	8,5	0,0	12,5

Granulopoese

Patient	Kontrolle				Zusatz 1:10 Prosplen ^R		
	0 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Fall I	14,3	8,5	8,3	4,2	7,9	5,0	0,0
Fall II	13,2	7,1	4,6	2,5	6,3	4,6	0,0
Fall III	11,6	24,8	18,1	11,0	13,4	4,5	0,0
Fall IV	15,4	6,0	5,9	6,0	6,1	14,1	0,0
Arithm.-							
Mittel	13,6	11,6	9,2	5,9	8,4	7,1	0,0

Patient	Kontrolle				Zusatz 1:100 Prosplen ^R		
	0 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h	24 ^h	48 ^h	72 ^h
Fall III	11,6	24,8	18,1	11,0	10,4	3,8	0,0
Fall IV	15,4	6,0	5,9	6,0	8,4	2,4	1,8
Arithm.-							
Mittel	13,5	15,4	12,0	8,5	9,4	3,1	0,9

3. Mitoseindizes

Betrachten wir das arithmetische Mittel der Mitose - indizes aller Patienten in der Erythropoese (Tab.9), so läßt sich beim Vergleich von Kontrolle und Zusatz 1:10 Prosplen^R in der Kontrolle nach 48 Stunden und beim Zusatz nach 24 Stunden eine deutliche Verringerung erkennen. Im Vergleich Kontrolle und Zusatz 1:100 Prosplen^R kommt es sowohl bei der Kontrolle als auch beim Zusatz nach 24 Stunden zu einem sicheren Abfall, allerdings bei 72 Stunden im Zusatz wieder zum Anstieg eines Mitoseindexes.

Bei der Granulopoese kommt es in der Kontrolle und bei beiden Zusätzen über die gesamte Inkubationszeit zu einem langsameren Abfall der Mitoseindizes als bei der Erythropoese, jedoch bei den Zusätzen stärker als bei der Kontrolle. Beim Zusatz 1:10 Prosplen^R zeigt sich die Abnahme nach 48 Stunden sogar sehr deutlich.

Zu den Tab.11,12,13 wäre kurz folgendes zu sagen: wie bereits auf Seite 20 erklärt, ist die Signifikanz beider Gruppen, hier der Kontrolle und des jeweiligen Zusatzes,

zufallsbedingt, wenn $p > 0,05\%$ beträgt. Dies trifft für alle p-Werte der drei Tabellen zu, so daß mit dem χ^2 -Test keine Signifikanz gefunden werden konnte.

Verteilung der Mitosephasen von 98 gezählten Mitosen:

Erythropoese

	P	fM	sM	A	T	R	Gesamtzahl der Mitosen
rK	1	3	9	0	0	0	13
rZ ₁	1	1	4	0	0	0	6
rZ ₂	2	3	1	0	0	0	<u>6</u> 25

Granulopoese

	P	fM	sM	A	T	R	Gesamtzahl der Mitosen
wK	0	14	21	0	0	0	35
wZ ₁	1	9	15	1	1	0	27
wZ ₂	1	3	6	1	0	0	<u>11</u> 73

rK = Kontrollkulturen der roten Reihe

rZ₁ = Zusatzkulturen 1:10 Prosplen^R der roten Reihe

rZ₂ = Zusatzkulturen 1:100 Prosplen^R der roten Reihe

wK = Kontrollkulturen der weißen Reihe

wZ₁ = Zusatzkulturen 1:10 Prosplen^R der weißen Reihe

wZ₂ = Zusatzkulturen 1:100 Prosplen^R der weißen Reihe

4. Karyologische Kurven

Bei der Auswertung der karyologischen Kurven, die, wegen der geringen Zahl vorkommender Mitosephasen, nicht sicher zur Bewertung herangezogen werden können, ergibt sich kein signifikanter Unterschied der Kontrollen gegenüber den Zusätzen 1:10 Prosplen^R und 1:100 Prosplen^R in der Mitosenverteilung. (Abb. 8 und Tab.: 11, 12 und 13).

Die unveränderten karyologischen Kurven zusammen mit den

erniedrigten Mitosen weisen auf eine verminderte Regeneration durch Prosplen^R-Zusatz beider Konzentrationen in der Erythropoese und in der Granulopoese hin.

Folgende Abkürzungen werden in der graphischen Darstellung der karyologischen Kurven verwendet:

P = Prophase
fM = frühe Metaphase
sM = späte Metaphase
A = Anaphase
T = Telophase
R = Rekonstruktionsphase

————— Kontrollkulturen
- - - - - Zusatzkulturen 1:10 Prosplen^R
-.-.-.-.- Zusatzkulturen 1:100 Prosplen^R

Verteilung der Mitosephasen der teilungsfähigen Zellen

Granulopoese

%

Erythropoese

%

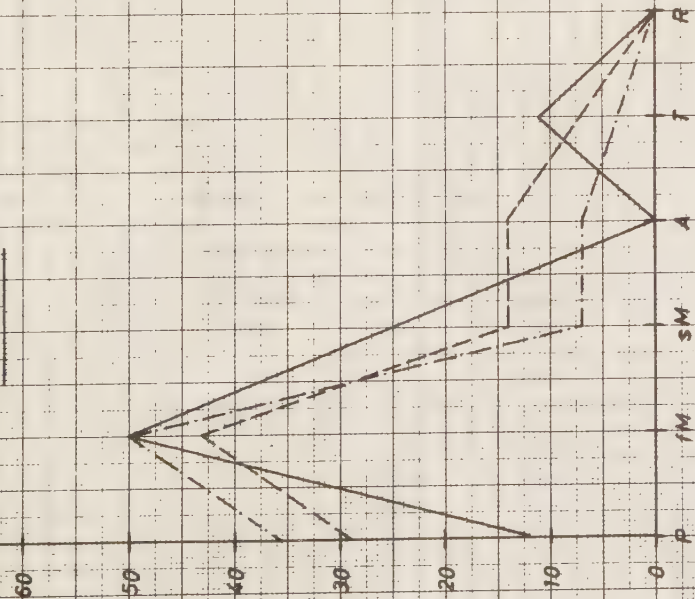
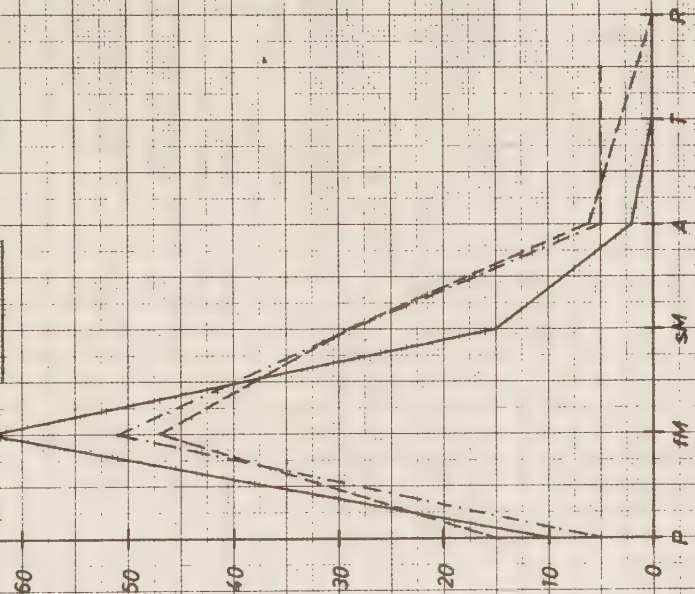


Abb. 8

Prospelen¹ 1:10

		Fall I		Fall II	
		24 ^h		48 ^h	
Mitosen	Zellzahl	(B-E) ² /E	Mitosen	Zellzahl	(B-E) ² /E
Kontr.:	1	425	1	512	0,466
Zusatz:	2	433	0	489	0,489
	3	433	1	1001	$\chi^2=0,955 \hat{p}=0,32$
Kontr.:	7	823	4	484	0,163
Zusatz:	2	632	2	402	0,121
	12	1455	6	886	$\chi^2=0,354 \hat{p}=0,54$
					$\chi^2=0,89 \hat{p}=0,34$

Prospelen^R 1:10

		Fall I		Fall II	
		24 ^h		48 ^h	
Mitosen	Zellzahl	(B-E) ² /E	Mitosen	Zellzahl	(B-E) ² /E
Kontr.:	1	376	2	474	0,57
Zusatz:	1	412	0	224	0,33
	2	788	2	808	$\chi^2=1,40 \hat{p}=0,23$
Kontr.:	3	704	2	431	0,553
Zusatz:	2	472	2	426	0,5552
	3	1171	4	867	$\chi^2=0,5025 \hat{p}=0,34$
					$\chi^2=1,10 \hat{p}=0,3$

Prosplen^R 1:10

Fall III

Prosplen ^R 1:10		Fall III	
24 ^h		48 ^h	
Mitosen	Zellzahl	(B-E) ² /E	Mitosen Zellzahl (B-E) ² /E
Kontr.: 1	298	0,0163	0 438
Zusatz: <u>1</u>	<u>384</u>	<u>0,0150</u>	<u>0</u> <u>725</u>
2	682	$X_1^2=0,0313 \hat{=} p=0,86$	0 1163
Kontr.: 4	161	0,382	5 286
Zusatz: <u>3</u>	<u>223</u>	<u>0,277</u>	<u>1</u> <u>221</u>
7	384	$X_1^2=0,659 \hat{=} p=0,38$	6 497
			$X_1^2=1,735 \hat{=} p=0,195$
			$X_1^2=1,413 \hat{=} p=0,23$

Prosplen^R 1:100

Prosplen ^R 1:100		Fall III	
24 ^h		48 ^h	
Mitosen	Zellzahl	(B-E) ² /E	Mitosen Zellzahl (B-E) ² /E
Kontr.: 1	298	0,412	0 438
Zusatz: <u>5</u>	<u>653</u>	<u>0,188</u>	<u>0</u> <u>756</u>
6	951	$X_1^2=0,600 \hat{=} p=0,55$	0 1194
Kontr.: 4	161	0,886	5 286
Zusatz: <u>3</u>	<u>288</u>	<u>0,500</u>	<u>1</u> <u>228</u>
7	449	$X_1^2=1,386 \hat{=} p=0,24$	6 514
			$X_1^2=1,865 \hat{=} p=0,17$
			$X_1^2=0,219 \hat{=} p=0,64$
			$X_1^2=1,792 \hat{=} p=0,18$

Prospelen^R 1:10

Fall IV

24 ^h		48 ^h		72 ^h	
Mitosen	Zellzahl	Mitosen	Zellzahl	Mitosen	Zellzahl
(B-E) ² /E		(B-E) ² /E		(B-E) ² /E	
Kontr.: 1	256	0	280	0	175
Zusatz: 1	595	0	695	0	145
2	951	0	975	0	320
$X_1^2=0,537 \hat{=} p=0,46$					
Kontr.: 4	668	4	676	3	500
Zusatz: 4	654	7	495	0	455
8	1322	11	1171	3	955
$X_1^2=0,0008 \hat{=} p=0,98$		$X_1^2=2,06 \hat{=} p=0,15$		$X_1^2=2,73 \hat{=} p=0,098$	

Prospelen^R 1:100

Kontr.: 1	256	0	280	0	175
Zusatz: 0	395	0	532	0	385
1	651	0	812	0	560
$X_1^2=1,583 \hat{=} p=0,21$					
Kontr.: 4	668	4	676	3	500
Zusatz: 5	595	1	465	1	573
9	1261	5	1141	4	1073
$X_1^2=0,265 \hat{=} p=0,61$		$X_1^2=0,896 \hat{=} p=0,37$		$X_1^2=1,314 \hat{=} p=0,26$	

Zusammenfassung der Ergebnisse

Bezüglich der Erythropoese kommen wir zu folgenden zusammenfassenden Ergebnissen:

a) Mittelwerts-Reifungskurven(Abb.6 S.30):

Gegenüber den Kontrollkulturen kann in den Zusatzkulturen 1:10 Prosplen^R in drei von vier Fällen eine durch den χ^2 -Test als signifikant festgestellte Reifungshemmung, im Fall IV (Nierentumor re) eine signifikante Reifungsbeschleunigung verzeichnet werden. Beim Zusatz 1:100 Prosplen^R ist im Fall III eine signifikante Reifungshemmung, im Fall IV eine signifikante sehr starke Reifungsbeschleunigung festzustellen. Grundsätzlich kann man daraus entnehmen, daß verschieden starke Prosplenzusätze annähernd gleiche Abweichungen zeigen.

b) Karyologische Kurven(Abb.8 S.39):

Die Kurven der Kontrollkulturen und der beiden Zusatzkulturen zeigen keine wesentlichen Unterschiede.

c) Mitoseindizes(Tab.9 S.36):

Bei den gemittelten Werten der Mitoseindizes stellen wir beim Zusatz 1:10 Prosplen^R einen, um einen Inkubationstag früheren, deutlichen Abfall gegenüber den Kontrollen fest. Beim Zusatz 1:100 Prosplen^R findet der sichere Abfall sowohl bei den Kontrollen als auch beim Zusatz schon nach 24 Stunden statt. Nach 72 Stunden kommt es jedoch wieder zum Anstieg. Beide Parameter b) und c) deuten auf eine Regenerationshemmung hin.

d) G/E-Indizes(Tab.8 S.34):

Während der G/E-Index der Kontrollkulturen annähernd normal ist und über die gesamte Inkubationszeit bleibt, fällt der Wert bei den beiden Zusätzen 1:10 und 1:100 Prosplen^R um ca. $\frac{1}{3}$. Dies spricht für eine Zunahme der roten bei gleichzeitiger Abnahme der weißen Knochenmarkzellen.

Wir finden also in drei von vier Fällen eine Reifungshemmung, im vierten Fall eine Reifungsbeschleunigung bei

gleichzeitiger Regenerationshemmung durch beide Zusatzkonzentrationen.

Bezüglich der Granulopoese kommen wir zu folgenden zusammenfassenden Ergebnissen:

a) Mittelwerts-Reifungskurven(Abb.6 u.7 S.30 u.31):

Gegenüber den Kontrollkulturen kann in den Zusatzkulturen 1:10 Prosplen^R eine durch den χ^2 -Test als signifikant festgestellte Ausreifungsbeschleunigung verzeichnet werden. Sie ist beim Zusatz 1:100 Prosplen^R noch stärker, schlägt aber nach 72 Stunden in eine deutliche Reifungshemmung um, die sich als signifikant belegen läßt.

b) Karyologische Kurven(Abb.8 S.39):

Wie schon in der Erythropoese, können auch in der Granulopoese keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Kontrollkulturen und den Zusatzkulturen festgestellt werden.

c) Mitoseindizes(Tab.9 S.36):

Bei den gemittelten Werten der Mitoseindizes kommt es für beide Zusätze 1:10 und 1:100 Prosplen^R zu einem langsamen, aber stetigen Abfall der Mitoseindizes, der beim Zusatz 1:100 Prosplen^R nicht stärker ist als bei 1:10. Somit scheint auch in der Granulopoese auf Grund der beiden Parameter b) und c) eine Regenerationshemmung vorzuliegen.

d) G/E-Indizes(Tab.8 S.34):

Für die G/E-Indizes gilt das unter d) bei der Erythropoese gesagte, da es sich um den Quotienten der Granulopoese und Erythropoese handelt.

Beim Zusatz 1:10 Prosplen^R finden wir also eine Ausreifungsbeschleunigung und Regenerationshemmung und beim Zusatz 1:100 Prosplen^R eine Proliferationshemmung, da die Ausreifung nach 72 Stunden und die Regeneration über die ganze Kulturzeit gehemmt sind.

Abschließend stellen wir fest, daß bei beiden Zusätzen, sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulopoese, die Regeneration -aber nicht signifikant- gehemmt ist. Be-

züglich der Reifung sind Unterschiede festzustellen, so ist in der Erythropoese bei beiden Zusätzen die Reifung in drei von vier Fällen signifikant gehemmt, in einem Fall signifikant beschleunigt. In der Granulopoese ist die Ausreifung beim Zusatz 1:10 Prosplen^R in allen Fällen signifikant beschleunigt, bei 1:100 Prosplen^R nach 72 Stunden signifikant gehemmt.

Diskussion

Es sei vorausgeschickt, daß in den Knochenmarkkulturen, hergestellt nach der Carrel'schen Methode, modifiziert nach BOLL(4,8), eine Wirkung von dem Milzextrakt Prosplen^R, das SCHLIEPHAKE und MAURER entwickelten, nachgewiesen werden kann. Die Wirkung zweier verschiedener Prosplen^R-Konzentrationen 1:10 und 1:100 auf menschliches Knochenmark wurde untersucht.

Unter Proliferation verstehen wir nach BOLL(7) die Summe von Reifung und Regeneration. Die Reifung wird in unserem Modell, der Differentialzählung von drei Tagekulturen, aus den Reifungskurven und den G/E-Indizes, die Regeneration aus den Mitoseindizes und den karyologischen Kurven beurteilt.

Mit dem Mitoseindex haben wir einen Parameter in der Hand, der uns in Bezug auf die Regenerationsaktivität der Knochenmarkzellen wesentliche Aufschlüsse gibt:

$$MI = f \cdot t_m$$

(Mitoseindex = Häufigkeit des Mitoseeintritts • Mitosedauer)

Eine Veränderung der Mitosedauer durch einen Zusatz wird sich durch eine Abweichung der karyologischen Kurve abzeichnen. Sonst beruht der Unterschied in der Häufigkeit des Mitoseeintritts lediglich auf einer veränderten Teilungsaktivität. Betrachten wir daraufhin die karyologischen Kurven (Abb. 8 S. 39), so können wir, sowohl in der Erythropoese als auch in der Granulopoese, nur unwesentliche Abweichungen der Mitosephasenverteilung unter 1:10 und 1:100 Prosplen^R-Zusatz gegenüber den Kontrollen ablesen. Daraus und aus der Erniedrigung des Mitoseindex resultiert eine Verlängerung der Interkinesedauer durch Prosplen^R, wie sie von BOLL und BAUCKS(12) beim Knochenmark von Splenomegalie-Patienten gefunden wurde.

Bei der Betrachtung der Reifung der Erythropoese, in der

die Mittelwertreifungskurven und der G/E-Index bestimmend sind, stellen wir beim Zusatz 1:10 Prosplen^R in drei von vier Fällen eine Reifungshemmung fest. Nur in dem Knochenmark beim Tumor (Fall IV) kommt es zu einer Reifungsbeschleunigung. Dieses Ergebnis bestätigt die Untersuchungen von BOLL und BAUCKS(12), die die Kinetik des Knochenmarks bei Milztumoren (Banti-Syndrom) verfolgten und mit normalen Fällen verglichen. Das Knochenmark verhält sich beim Banti-Syndrom in vivo ähnlich wie beim Prosplenzusatz 1:10 in vitro. Beim Zusatz 1:100 Prosplen^R trifft das auch für den Fall IV zu, nicht aber im Fall III.

In der Granulopoese ist nach BOLL(9) für die anfängliche Vermehrung der teilungsfähigen Granuloblasten in vitro die Kulturbedingung verantwortlich. BOLL und FUCHS(8) gelang es, die Reifungsfunktion mathematisch zu erfassen und somit eine Beeinflussung der Zellverteilung durch das Kulturmedium innerhalb der 72 Stunden Bebrütungszeit auszuscheiden.

Auch in unseren Kontrollversuchen zeigt sich die anfängliche Rechtsverschiebung: Mit längerer Bebrütungszeit nimmt die Zellausreifung ständig zu. Beim Zusatz 1:10 Prosplen^R geht die Ausreifung schneller vor sich. Noch stärker ist beim Zusatz 1:100 Prosplen^R die Ausreifung, die jedoch nach 72 Stunden in eine Ausreifungshemmung umschlägt.

Da beim Zusatz 1:100 Prosplen^R in der Granulopoese die Regeneration und die Reifung gehemmt sind, sprechen wir von einer Proliferationshemmung, ein Befund, wie er sonst bei chronischer Myelose und im Megaloblastenmark gefunden wird.

COTTIER(16) konnte die Proliferation in der Granulo- und Erythropoese mit dem wässrigen Extrakt einer Hyperspleniemilz herabsetzen, genau wie JOMBRES(25) durch Milzvenenunterbindung beim Kaninchen. Ein Befund, der bei unseren Ergebnissen in der Erythropoese beim Zusatz 1:10 Prosplen^R in drei von vier Fällen und in der Granulopoese beim Zusatz 1:100 Prosplen^R, wenn auch erst nach 72 Stunden, in beiden Fällen zutrifft.

Auch v. ALBERT(1) konnte knochenmarkwirksame Substanzen von Milzextrakten in vitro nachweisen. Für seinen Nachweis

Auszug aus der Tabelle 1 nach v.ALBERT(1) unseren Ergebnissen gegenübergestellt:

v.ALBERT

Tab.14

Extrakt	Wirkung auf die Erythropoese	Wirkung auf die Granulopoese	
		Proliferation	Reifung
ME 105/17 Kälbermilz Gesamtextrakt	bis 48 Std.anhaltende leichte Stimulierung	deutliche Hemmung	deutliche Hemmung
ME 602 Kälbermilz Gesamtextrakt (frisch)	bis 24 Std.leichte Stimulierung	deutliche Hemmung	deutliche Hemmung
ME 105/18 Menschenmilz Gesamtextrakt	keine sichere Wirkung	deutliche Hemmung nach 48 Std stark	deutliche Hemmung nach 48 Std.besonders stark

eigene Daten

Extrakt	Wirkung auf die Erythropoese		Wirkung auf die Granulopoese	
	Regeneration	Reifung	Regeneration	Reifung
Prosplen ^R 1:10	deutliche Hemmung	in 3 von 4 Fällen signifikant gehemmt in 1 Fall beschleunigt. G/E-Index spricht für Entkernungsstörung	deutliche Hemmung	relativ gute Ausreifung
Prosplen ^R 1:100	deutliche Hemmung	Im Fall II beschleunigt im Fall IV bis 48 Std. gehemmt, dann beschleunigt oder auch Entkernungsstörung	deutliche Hemmung	deutliche Hemmung

stellte er eiweißfreie Extrakte aus hypersplenischen Milzen von Kälbern und aus einer menschlichen Milz her. In kurz gefaßter Form haben wir die eigenen Daten denen von v.ALBERT(1) in der Tab.14 S.48 gegenübergestellt.

Beim Vergleich der Ergebnisse mit Prosplen^R 1:10 und 1:100 mit den Ergebnissen von v.ALBERT (1) stellen wir fest, daß bezüglich der Granulopoese, mit Ausnahme der Reifung im Zusatz 1:10 Prosplen^R, keine Unterschiede in der Wirkung auf das Knochenmark zu finden sind. Auf die Proliferation der Erythropoese wirkt Prosplen^R in den meisten Versuchen signifikant hemmend, während die Extrakte bei v.ALBERT(1) auf die Proliferation der Erythropoese stimulierend wirkten. Bei den Untersuchungen von v.ALBERT(1) ist allerdings noch zu berücksichtigen, daß er sie mit Extrakten hypersplener Milzen vorgenommen hat, während Prosplen^R aus normalen Milzen gewonnen wird. Geht man jedoch von der Voraussetzung aus, daß bestimmte Milzfaktoren auf das Knochenmark wirken, so wäre denkbar, daß die Größe der Milz den Anteil knochenmarkwirksamer Faktoren beeinflusst, wodurch der Effekt auf die Hemmung entsprechend verstärkt würde. BOLL und BAUCKS(12) kommen ebenfalls zu dem Schluß, daß eher ein hemmender Milzfaktor zu vermuten sei, als daß eine vermehrte Zelldestruktion im Milztumor die Ursache der Pancytopenie sein könne. In unseren Versuchen stellen wir fest, daß Prosplen^R, aus Schweinemilzen gewonnen, die Faktoren enthält, die auch von der gesunden Milz abgegeben werden. Somit wäre die Wirkung auf das Knochenmark allein eine Frage der Dosis.

Der Extrakt Prosplen^R übt also auf das Knochenmark in vitro eine ähnliche Wirkung aus wie ein Milztumor auf das Knochenmark in vivo. Daß überhaupt ein signifikanter Effekt nachgewiesen werden konnte, spricht für einen humoralen, auf die Knochenmark-Proliferation wirksamen Milzfaktor und unterstützt die Hypothese von HITTMAYER(22), KAISER und RINDT(26) sowie von RUHENSTROTH - BAUER(31).

Zusammenfassung

Schon vielfach wurde vermutet, daß die Milz knochenmarkwirksame Substanzen produziert.

Deswegen wurde die Wirkung von Prosplen^R, ein histamin-, cholin-, eiweiß- und lipoidfreies Frischmilzextrakt, in den Dosen 1:10 und 1:100 auf menschliches Knochenmark in vitro geprüft. Es wurden Zählungen der einzelnen Zellklassen, sowohl der Erythropoese als auch der Granulopoese am Knochenmark von vier Patienten über drei Inkubationstage vorgenommen, und von den Ergebnissen wurden Reifungs- und karyologische Kurven aufgestellt, die Mitosefrequenzen der Erythro- und Granulopoese bestimmt und der G/E-Index errechnet. An Hand dieser vier Parameter zeigte sich für die Regeneration der Erythro- und Granulopoese in den beiden Konzentrationen eine deutliche Hemmung. Die Ausreifung der Erythroblasten war beim Zusatz 1:10 Prosplen^R in der Erythropoese in drei von vier Fällen signifikant gehemmt, in einem Fall signifikant gefördert. Mit Prosplen^R 1:100 lag in einem Fall eine Reifungshemmung, in dem anderen Fall eine Reifungsbeschleunigung vor. In der Granulopoese war die Ausreifung bei 1:10 Prosplen^R beschleunigt und bei 1:100 Prosplen^R gehemmt. In der Granulopoese kann somit nur beim Zusatz 1:100 Prosplen^R von einer Proliferationshemmung gesprochen werden.

Es zeigt sich, daß die Zählungen an Knochenmarkkulturen geeignete Möglichkeiten bieten, Milzextrakte in ihrer Wirkung auf knochenmarkwirksame Substanzen hin zu prüfen.

Literaturverzeichnis

1. Albert, H.-H. von Zur Frage einer depressorischen Knochenmarkwirkung "hypersplener" Milzen.
Blut IX 405(1963)
2. Albert, H.-H. von Hemmwirkung eines Extraktes aus einer menschlichen Hyperspleniemilz in der Knochenmarkkultur.
Klin.Wschr.40,211(1962)
3. Albert, H.-H. von, Zur Frage einer depressorischen Knochenmarkwirkung "hypersplener" Milzen.
Ziengraf, A.
Blut XII 104(1966)
4. Albrecht, M., Untersuchungen über die Einwirkung von Colchicin, arseniger Säure, Stickstofflost und Äthyluretan auf menschliches Knochenmark in vitro.
Eoll, I.
Arztl.Wschr.5,485(1950)
5. Ammon, R. Fermente, Hormone, Vitamine Bd.II
G.Thieme-Verlag, Stuttgart(1960)
6. Belitz, H.-J. Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie.
Ernst Klett-Verlag, Stuttgart(1960)
7. Bock, K.-E., Splenogene Knochenmarkhemmung (Tierexperimenteller Beweis)
Klin.Wschr.17,1315(1938)
8. Boll, I., Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro.
Fuchs, G.
Blut VII 257(1961)

9. Boll, I. Granulocytopoese unter normalen und pathologischen Bedingungen. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1966)
10. Boll, I. Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkzellen in vitro-Granuloblastenmitosen-. Fol.haematol.neue Folge 3, 58(1958)
11. Boll, I. Die Proliferationskinetik der normalen und angeregten Erythropoese nach morphologischen Kriterien. Hämatologie u. Bluttransfusion 8, 49 (1969)
12. Boll, I., Das Knochenmark beim Milztumor und seine Kinetik nach dem Verhalten in der 3-Tage-Kultur. Die Milz. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 355(1970)
13. Boll, I., Mersch, G. Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro. Blut XVII 193(1968)
14. Cavalli-Sforza, L. Biometrie, Grundzüge biologischer medizinischer Statistik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart (1969)
15. Frank, E. Aleukia splenica. Die splenogene Leukomyelotoxikose-Aleukia haemorrhagica III. Berl.klin.Wschr. 53, 555(1916)

16. Cottier, H. Experimenteller Beitrag zur Frage
der hypersplenischen Panhämocytopenie.
Acta haemat.(Basel)7,303(1952)
17. Gorlitzer v.Mundy, Die Behandlung der Polyglobulien
V.,Friedrich,K. mit Milzdiät und Milzextrakt.
Med.Klin.56,800(1961)
18. Gorlitzer v.Mundy, Hypersplenismus und Hyposplenismus.
V. Med.Klin.48,1921(1953)
19. Gross,R., Erkrankungen der Leukopoese(Leu-
Bock,H.-E. kozytopathien)und des Retikulo-
Histozytären Systems.
Klinik der Gegenwart X,589(1960)
20. Heckner,F. Leitfaden der Blutzellkunde.
Urban und Schwarzenberg München
und Berlin (1965)
21. Heilmeyer,L. Physiologische Beziehungen zwischen
Milz und Knochenmark.
Klin.Wschr.33,689(1955)
22. Hittmair,A., Die Milz ein inkretorisches Organ.
Lauda,E. Milzsymposion 2.-4.September 1954
Insbruck Ref.Mat.Med.Nordm.VI,
H.9,331(1954);VI,H.10,372(1954)
23. Isaac,S. Ueber Anaemia splenica
Berl.klin.Wschr.49,1978(1912)
24. Jackson,C.C., The Influence of the Spleen on
Simmons,E.L., Hematopoietic Recovery After ir-
Bethard,W.E., radiation Injury.
Marks,E.K., Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med.73,455
Robson,M.J. (1950)

25. Jombres, P. Zur Frage der Hemmungswirkung
der Milz auf das Knochenmark.
Z.ges.exp.Med. 106, 457 (1939)
26. Kaiser, E., Milz und Endokrinium.
Rindt, W. Med.Klin. 60, 985 (1965)
27. Palmer, I.G., Studies on the Effect of Splen-
Kemp, I., ectomy on the Total Leukocyte
Cartwright, G.E., Count in the Albino Rat.
Wintrobe, M.M. Blood VI, 3 (1951)
28. Pribilla, W. Über einige Funktionen der Milz.
Internist (Berl.) 8, 345 (1967)
29. Rohr, K. Das menschliche Knochenmark.
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart
(1960)
30. Ruhenstroth-Bauer, Versuche zum Nachweis eines spe-
G. zifischen erythropoetischen Hor-
mons.
Naumyn-Schmiedeberg's Arch.exp.
path.Pharmak. 211, 32 (1950)
31. Ruhenstroth-Bauer, Die Steuerung der Erythrocyten-
G. konzentration im Blut.
Kgr.europ.Ges.Hämat., Springer-
Verlag, Berlin Götting-Heidelberg
(1956)
32. Schleinzner, R. Beeinflussung der Antigen-Anti-
körper Reaktion des Menschen durch
verschiedene Organsubstrate.
Mat.med.Nordm. VII/5 (1955)

33. Streicher, H.-J. Chirurgie der Milz.
Springer-Verlag, Berlin-Götting-
Heidelberg (1960)
34. Streicher, H.-J., Die Knochenmarkfunktionsprüfung
Schmidt, P.-H. unter besonderer Berücksichtigung
der Milzextirpation.
Klin. Wschr. 40, 667 (1962)
35. Tomoda, M. Bedingungsreaktion als spezifische
Funktion der Milz und ihre klini-
sche Bedeutung.
Ref. aus: Bruns' Beitr. klin. Cir.,
Bd. 190, 222 (1955)
36. Waldow, F. Die Bedeutung der Milzwirkstoffe
für die Therapie.
Ref. aus: Landarzt 34, 861 (1958)
37. Weinreich, J. Milz und Leber in ihrem Einfluss
auf das Blutbild.-Untersuchungser-
gebnisse zum Problem des "Hyper-
splenismus".
Acta hepato-splenol. (Stuttg.) 10,
81 (1963)
38. Weinreich, J. Knochenmarkfunktionsprüfung bei
Patienten mit chronischen Leber-
erkrankungen.
Acta hepato-splenol. (Stuttg.) 16,
18 (1969)

An dieser Stelle sei es mir erlaubt, Frau Professor Dr.med.Irene Boll für die Überlassung des Themas, die freundliche Hilfe und zahlreichen Anregungen meinen herzlichen Dank auszusprechen. Gleichzeitig möchte ich aber auch Herrn Professor Dr.rer.nat.H.J.Belitz für die Anleitung zur Durchführung der Signifikanzberechnung danken.

Lebenslauf

Am 28. April 1940 wurde ich als Sohn des Dipl.-Bergingenieurs Herbert Wildanger und seiner Ehefrau Gisela Wildanger, geb. Syrup, in Berlin geboren.

Nach der Grundschule besuchte ich die 1. Oberschule Technischen Zweiges Zehlendorf, die ich 1957 mit der Mittleren Reife abschloß.

Ich begann die Bergmannslehre, die ich 1959 mit bestandener Knappenprüfung beendete.

Ab Oktober 1960 besuchte ich die Menzelschule (Oberschule Wissenschaftlichen Zweiges) Tiergarten (Berlin). Im März 1964 bestand ich die Reifeprüfung an dieser Schule.

Von 1964 bis 1966 studierte ich an der TU-Berlin Bergbau.

Das Studium der Zahnmedizin begann ich im April 1966 an der FU-Berlin. Im Sommer 1969 legte ich das Physikum ab und beendete im September 1972 das Zahnmedizinstudium mit dem Staatsexamen.

Im Rahmen der Assistentenzeit war ich von Oktober 1972 an im Rudolf-Virchow Krankenhaus beschäftigt und übernahm im Januar 1973 eine Assistentenstelle in Sehnde (Burgdorf).

